

Polycheck[®]

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE

English: Page 1-6

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE

Deutsch: Seite 7-11

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznego IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera

Polski: Strony 12-18

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem

Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche

Italiano: Pagine 25-30

REF:

MKPPC 1 (Z)

Pediatric Screen

MKIPC 1 (Z)

Inhalation Screen

MKFPC 1 (Z)

Food Screen

MKMPC 1 (Z)

Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH
Vorbergweg 41
D-48159 Münster
Germany

IVD

Distribution/Service:
Vertrieb/Service:

Milenia Biotec GmbH

Versailler Straße 1

D-35394 Gießen, Germany









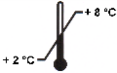

Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0

Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80

E-Mail: info@milenia-biotec.de

<http://www.milenia-biotec.de>

Explanation of Symbols

Symbols (GB) Symbole (DE) Simboli (IT) Símbolos (ES) Symboles (FR) Jelölés (HU) Symbole (PL) Σύμβολα (GR) Symbol (CZ)	Explanation Erklärung Significato Significado Signification Magyarázat objaśnienia Επαξήγηση Vysvětlení	Symbols (GB) Symbole (DE) Simboli (IT) Símbolos (ES) Symboles (FR) Jelölés (HU) Symbole (PL) Σύμβολα (GR) Symbol (CZ)	Explanation Erklärung Significato Significado Signification Magyarázat objaśnienia Επαξήγηση Vysvětlení
	Expiry date Haltbarkeitsdatum Data di scadenza Fecha de caducidad Date d'expiration Lejárati idő Data przydatności Ημερομηνία Λήξης Datum expirace		Package size Packungsgröße Numero di test Número de determinaciones Nombre de tests par trousse Kiszerezés nagysága Ilość testów Μέγεθος Συσκευασίας Velikost balení
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device In Vitro Diagnostikum Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Para uso en el Diagnóstico <i>in vitro</i> Diagnostic <i>in vitro</i> In vitro diagnosztikum Do diagnostyki <i>In Vitro</i> In Vitro ιατρική διαγνωστική συσκευή In vitro diagnostikum		Manufacturer Hersteller Produttore Fabricante Fabriqué par Gyártó Producent Παραγωγός Výrobce
	Batch code Los-Bezeichnung Codice del lotto Lote Numéro de lot Sarzsszám Kod partii towaru Αριθμός Παρτίδας Číslo šarže		Only for evaluation purposes Nur zur Leistungsbewertung Solo per uso sperimentale Con fines exclusivos de evaluación Pour évaluation uniquement Kizárólag vizsgálati célokra Tylko do oceny produktu Μόνο για λόγους αξιολόγησης Pouze pro vyhodnocování
	Catalogue number Artikel-Nummer Numero di catalogo Referencia Référence Katalógusszám Numer katalogowy Αριθμός Καταλόγου Katalogové číslo		Consult Instructions for Use Gebrauchsanweisung beachten Consultare le istruzioni per l'uso Consultar instrucciones de uso Consulter la notice A használati utasítás tanulmányozandó Informacja dla użytkownika Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Přečtěte si návod k použití
	Storage conditions Lagerungsbedingungen Temperatura di conservazione Temperatura de conservación Température de conservation Tárolási körülmények Temperatura przechowywania Συνθήκες Φύλαξης Skladovací podmínky		Consult attended documents Begleitdokumente beachten Consultare i documenti relativi Consultar documentos adjuntos Consulter le document avec attention A csatolt dokumentumok tanulmányozandók Dodatkowe dokumenty Συμβουλευτείτε τα αντίστοιχα έντυπα Projděte si příslušné dokumenty

Materials Supplied, Storage and Stability

Components	Cat.-No.	Content	Preparation	Store at	Shelf Life
Polycheck® Pediatric Screen, Chip coated with 5 calibrators and 20 allergens: f13, f02, f01, f75, f35, f31, f03, f49, f14, f04, t03, g06, w06, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02	MCPPC 1(Z)	20 (10) Chips	ready to use	2 - 8 °C Protect from moisture! Store together with desiccant in a carefully sealed plastic bag	until the expiration date
Polycheck® Inhalation Screen, Chip coated with 5 calibrators and 20 allergens: t03, t02, t04, t07, g06, g12, w06, w09, d01, d02, e02, e01, e03, e06, e84, e82, m03, m02, m01, m06	MCIPC 1 (Z)	20 (10) Chips			
Polycheck® Food Screen, Chip coated with 5 calibrators and 20 allergens: f17, f13, f16, f20, f02, f01, f75, f78, f35, f85, f31, f25, f03, f24, f95, f49, f14, f04, f10, f05	MCFCPC 1 (Z)	20 (10) Chips			
Polycheck® Mediterranean Screen, Chip coated with 5 calibrators and 20 allergens: t03, t02, t04, t07, g06, g12, w01, w06, w09, w21, t09, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02, m01, m06	MCMPC 1 (Z)	20 (10) Chips			
Start Solution, buffered protein solution	MSPC	2 vials (1 vial) 5 mL, blue	ready to use	2 - 8 °C	30 days after opening, respectively until expiration date
anti-IgE Antibody, monoclonal (murine) antibody labeled with ligand	MAPC	2 vials (1 vial) 5 mL, green	ready to use	2 - 8 °C	30 days after opening, respectively until expiration date
Enzyme-Labeled anti-Ligand, Ligand conjugated to alkaline phosphatase	MEPC	2 vials (1 vial) 5 mL, white	ready to use	2 - 8 °C	30 days after opening, respectively until expiration date
Substrate Solution, 5'bromo-4'chloro-3' indolyl-phosphate-and 4' nitroblue tetrazolium, buffered	MBPS3	2 vials (1 vial) 5 mL, black	ready to use	2 - 8 °C protect from light!	30 days after opening, respectively until expiration date
Wash Buffer, phosphate buffer, pH 7.4	MWBPC	1 pouch	dissolve in 1 litre sterile demineralized water	2 - 8 °C	30 days after opening, respectively until expiration date

Material Safety Data Sheets are available on request (look as well www.milenia-biotec.de).

Materials Required

- Personal computer (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), printer
- Flat- bed- scanner (requested types on demand)
- Biocheck Imaging Software (BIS) for patient-oriented analysis, calculation and report
- shaker (orbital shaker: approx. 120 rpm)
- variable pipette for 250 µl up to 1000 µL; Multipette (1 mL) to dispense the wash solution
- sterile demineralized water
- sterile-one-litre bottle (for diluted wash solution)

Specimen Collection and Preparation

Sera samples can be stored at 2-8 °C for up to 3 days. Storage at -20°C or lower is recommended for longer term storage. Avoid repeated freezing and thawing. Lipemic sera should be cleared by centrifugation.

Warnings and Precautions

All reagents of this kit are strictly intended for *in-vitro* diagnostic use only. Do not replace or mix up reagents from one and the same or several test packages. Reagents' bottles shelf-life (30 days) starts with opening the bottles. Opened bottles should be used beforehand opening a new bottle! Only the powdered wash buffer can be exchanged between several kit packages. The application should be used by staff particularly informed and educated in the practice of *in-vitro* diagnostics. Compliance with the prescribed protocol for test implementation is always recommended. Sample material of patients (e.g. serum or plasma) normally used in laboratory determinations are always considered potentially infectious. Samples of such high risk patient groups should always be marked clearly and if necessary be handled in safety work benches (e.g. lamina flow bench).

Method and Test Principle

The Polycheck[®] screening assay is an enzyme- immuno assay for the quantitative determination of allergen-specific IgE. There are 20 lines of relevant paediatric, food, or inhalant allergens coated together with 5 calibrators on a carrier membrane, which is located in the cavity of the Polycheck[®] chip. During incubation the patient's serum allergen-specific IgE binds to the corresponding allergens. Non-bound serum components are removed by washing. Ligand labeled anti-IgE antibodies bind to allergen-specific IgE. Unbound antibodies are removed by washing. Enzyme-labeled anti-ligand binds to the immune-complexes; surplus of enzyme conjugate is washed away. The substrate solution is added. Specifically bound enzymes convert the colourless substrate to a dark precipitate. The colour intensity of the (allergen-) lines is proportional to the respective allergen-specific IgE concentration in the patient's serum.

The Polycheck[®] chips can be evaluated using the Biocheck Imaging Software (BIS), a PC and a flat-bed scanner. The results are quantified in kU/L. This calculation is based on a number of calibrators, run on each chip.

Test Performance

Important notes:

- The required number of chips and test reagents should be at room temperature, before use.
 - Powdered wash buffer should be diluted with steril demineralized water at least 30 minutes prior to use. Use a steril bottle.
 - Do not allow the membrane of the test chips to dry during the assay is running.
 - All incubation steps are performed at room temperature (18-24°C) and with continual shaking.
1. Prepare a required number of Polycheck[®] allergen chips and mark them. Overlay allergen chips with **400 µL** Start Solution (blue) and incubate them for a few seconds. Tap the chips carefully on adsorbent paper.
 2. Add **400 µL** patient's serum and incubate for **45 minutes** on an orbital shaker.
 3. Decant sample, and wash **three times** with **1 ml** wash buffer.
For that place the chips onto the work bench and pipet carefully 1 ml wash buffer into the cavity of the chip. Decant washing solution from the wells into a sink. Afterwards, add two times more 1 ml wash buffer in the same way into the cavities. After this, tap the chips carefully on adsorbent paper again.
 4. Then, pipet **400 µL** wash buffer into every chip cavity and incubate for **5 minutes** on the shaker. Decant and wash again every chip **3x with 1 ml** wash buffer. Tap the chips carefully on adsorbent paper.
 5. Pipet **400 µL** anti-IgE Antibody (green) and incubate for **45 minutes** on the shaker.
 6. Decant and wash every chip **3x with 1 ml** wash buffer. Tap carefully chips on adsorbent paper.
 7. Add **400 µL** Enzyme-labeled Anti-Ligand (white) and incubate for **20 minutes** on the shaker.
 8. Decant and wash every chip **3x with 1 ml** wash buffer. Tap carefully on adsorbent paper.
 9. Pipet **400 µL** substrate solution (black) and incubate **20 minutes in the dark** on the shaker.
 10. Decant and wash every chip **3x with 1 ml** wash buffer. Tap carefully the chips on adsorbent paper.
 11. Let the Polycheck[®] Chips become **air-dry**. Before evaluation with a scanner and the BIS software the membranes **must be absolutely dry!**

The chips can be evaluated up to 3 month, if they will be stored at room temperature and protected from light and humidity.

Interpretation of Results

The evaluation of the Polycheck[®] allergen chips are operated with the assistance of a PC, the Biocheck Imaging Software (BIS), and a flat-bed scanner. The Software (BIS) analyzes, documents, and stores all patients' results in its database.

The Polycheck[®] Allergen chips are placed upside down onto the flat-bed-scanner's surface. Afterwards they are scanned and the data are processed by the software. - Please note orientation labelling on the surface.

The BIS-program verifies the technique of the chips, the validity of the calibrators, and ranges the intensity of greyscales and the position of the scanned band pattern to each allergen of the selected panel. BIS calculates allergen-specific IgE concentrations for each allergen on the membrane. A patient's report is generated for every sample. There are all allergens listed which have been tested in this panel with the present concentration of allergen specific IgE. The results were quantitatively reported in International Units [kU IgE/L]. The RAST-class score to the respective IgE concentrations, and its clinical interpretation is shown in the following table:

IgE [kU/L]	Class	Interpretation
< 0.35	0	No allergen specific antibody detectable
0.35 – 0.7	1	Very low antibody titer; often no clinical symptom- despite sensitization
0.7 – 3.5	2	Low antibody titer; sensitization, often clinical evidence in upper class ranges
3.5 – 17.5	3	Clear antibody titer; clinical evidence is mostly present
17.5 – 50	4	High antibody titer; always nearly with existing actuality clinical signs
50 – 100	5	Very high antibody titer
> 100	6	Extreme high antibody titer

Limitation of the Method

1. A definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single diagnostic method. It should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
2. Allergenicity of food allergens may be modified by heating (cooking) and/or digestion. In this case the Polycheck[®] results may be inconsistent with the clinical findings.
3. Due to occurrence of common antigenic determinants in allergens of one natural substance family, the possibility of crossreactions cannot completely be excluded. With the Polycheck[®] system only the declared allergen panels can be covered, but not other (crossreacting) allergens!

Assay Characteristics

Sample material:	serum
Incubation time:	2 hours and 10 minutes at room temperature (18-24°C) on an orbital shaker
Lower detection limit:	0.15 kU/ L
Specificity	human IgE; no crossreaction with IgG, IgA, IgD, IgM
Calibration:	using single donor's and pool sera with defined allergen- specific IgE concentration
Method Comparison	skin tests and alternative solid-phase immunoassays

Short Instruction: Polycheck®

Steps	Solution	per Chip
Pipet	Start Solution (blue)	400 µl
Incubate a few seconds, decant and tap the chips on absorbant paper.		
Pipet	Sample	400 µl
Incubate 45 min at room temperature (RT) on an orbital shaker.		
Decant, wash 3x with 1mL wash buffer (per chip). Add 400 µL wash buffer and incubate 5 min at RT on the shaker. Decant, wash 3x with 1mL wash buffer, tap the chips on absorbant paper.		
Pipet	Wash Buffer	400 µl
Pipet	Ligand-labeled anti-IgE (green)	400 µl
Incubate 45 min at RT on an orbital shaker.		
Decant, wash 3x with 1mL wash buffer (per chip), tap the chips on absorbant paper.		
Pipet	Enzyme-labeled anti-Ligand (white)	400 µl
Incubate 20 min at RT on a shaker.		
Decant, wash 3x with 1mL wash buffer (per chip), tap the chips on absorbant paper.		
Pipet	Substrate Solution (black)	400 µl
Incubate 20 min at RT on a shaker in the dark		
Decant, wash 3x with 1mL wash buffer (per chip), tap the chips on absorbant paper.		
Air-dry the chips.		
Evaluate the dry chips by using Biocheck Imaging Software and a scanner.		

For detailed description of the procedure see page 4, also.

Available Panels:

Pediatric (MKPPC)		Inhalation (MKIPC)		Food (MKFPC)		Mediterranean (MKMPC)	
Peanut	f13	Birch Pollen	t03	Hazelnut	f17	Birch Pollen / <i>Betula alba</i>	t03
Milk	f02	Alder Pollen	t02	Peanut	f13	Alder Pollen / <i>Alnus spp.</i>	t02
Egg White	f01	Nutbush Pollen	t04	Walnut	f16	Nutbush Pollen / <i>Corylus avellana</i>	t04
Egg Yolk	f75	Oak Pollen	t07	Almond	f20	Oak Pollen / <i>Quercus robur</i>	t07
Potato	f35	Timothy Grass	g06	Milk	f02	Timothy Grass / <i>Phleum pratense</i>	g06
Carrot	f31	Cultivated Rye	g12	Egg White	f01	Cultivated Rye / <i>Secale cereale</i>	g12
Codfish	f03	Mugwort	w06	Egg Yolk	f75	Common Ragweed / <i>Ambrosia elatior</i>	w01
Apple	f49	English Plantain	w09	Casein	f78	Mugwort / <i>Artemisia vulgaris</i>	w06
Soybean	f14	<i>D. pteronyssinus</i>	d01	Potato	f35	English Plantain / <i>Plantago lanceolata</i>	w09
Wheat Flour	f04	<i>D. farinae</i>	d02	Celery	f85	Pellitory / <i>Parietaria judaica</i>	w21
Birch Pollen	t03	Dog Epithelia	e02	Carrot	f31	Olive Pollen / <i>Olea europea</i>	t09
Timothy Grass	g06	Cat Epithelia	e01	Tomato	f25	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	d01
Mugwort	w06	Horse Epithelia	e03	Codfish	f03	<i>Dermatophagoides farinae</i>	d02
<i>D. pteronyssinus</i>	d01	Guinea pig Epithelia	e06	Shrimp	f24	Dog Epithelia	e02
<i>D. farinae</i>	d02	Hamster Epithelia	e84	Peach	f95	Cat Epithelia	e01
Dog Epithelia	e02	Rabbit Epithelia	e82	Apple	f49	Horse Epithelia	e03
Cat Epithelia	e01	<i>A. fumigatus</i>	m03	Soybean	f14	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m03
Horse Epithelia	e03	<i>C. herbarum</i>	m02	Wheat Flour	f04	<i>Cladosporium herbarum</i>	m02
<i>A. fumigatus</i>	m03	<i>P. notatum</i>	m01	Sesame	f10	<i>Penicillium notatum</i>	m01
<i>C. herbarum</i>	m02	<i>A. tenius</i>	m06	Cultivated Rye Flour	f05	<i>Alternaria tenuis</i>	m06

Polycheck®

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE
English: Page 1-6

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE
Deutsch: Seite 7-11

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznej IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera
Polski: Strony 12-18

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem
Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche
Italiano: Pagine 25-30

REF:

MKPPC 1 (Z)

Pediatric Screen

MKIPC 1 (Z)

Inhalation Screen

MKFPC 1 (Z)

Food Screen

MKMPC 1 (Z)

Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH
Vorbergweg 41
D-48159 Münster
Germany



Distribution/Service:
Vertrieb/Service:
Dystrybucja /Serwis:
Distribuce/Servis:
Distribuzione/Assistenza:

Milenia Biotec GmbH

Versailler Straße 1
D-35394 Gießen, Germany
Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0
Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80
E-Mail: info@milenia-biotec.de
<http://www.milenia-biotec.de>

Kitbestandteile, Lagerung und Stabilität

Komponenten	Art.-Nr.	Inhalt	Vorbereitung	Lagerung	Haltbarkeit
Polycheck® Pädiatrie-Screen , (Polycheck® Pediatric Screen) , Chip beschichtet mit 5 Standards und 20 Allergenen: f13, f02, f01, f75, f35, f31, f03, f49, f14, f04, t03, g06, w06, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02	MCPPC 1 (Z)	20 (10) Chips	gebrauchsfertig	2 - 8°C gut verschlossen, mit Trocken- mittel lagern	bis zum Verfallsdatum
Polycheck® Inhalations-Screen, (Polycheck® Inhalation Screen) , Chip beschichtet mit 5 Standards und 20 Allergenen: t03, t02, t04, t07, g06, g12, w06, w09, d01, d02, e02, e01, e03, e06, e84, e82, m03, m02, m01, m06	MCIPC 1 (Z)	20 (10) Chips	gebrauchsfertig		
Polycheck® Nahrungsmittel-Screen, (Polycheck® Food Screen) , Chip beschichtet mit 5 Standards und 20 Allergenen: f17, f13, f16, f20, f02, f01, f75, f78, f35, f85, f31, f25, f03, f24, f95, f49, f14, f04, f10, f05	MCFPC 1 (Z)	20 (10) Chips	gebrauchsfertig		
Polycheck® Mediterran-Screen, (Polycheck® Mediterranean Screen) , Chip beschichtet mit 5 Standards und 20 Allergenen: t03, t02, t04, t07, g06, g12, w01, w06, w09, w21, t09, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02, m01, m06	MCMPC 1 (Z)	20 (10) Chips	gebrauchsfertig		
Starter-Lösung (Start Solution), gepufferte Proteinlösung	MSPC	2 Fl. (1 Fl.) 5 ml, blau	gebrauchsfertig	2 - 8°C	Je Flasche, 30 Tage nach Öffnen bzw. bis zum Verfallsdatum
anti-IgE Antikörper (anti-IgE Antibody), monoklonaler (Maus-) Antikörper mit Ligand markiert	MAPC	2 Fl. (1 Fl.) 5 ml, grün	gebrauchsfertig	2 - 8°C	Je Flasche, 30 Tage nach Öffnen bzw. bis zum Verfallsdatum
Enzym-markierter anti-Ligand (Enzyme-Labeled anti-Ligand) , Ligand konjugiert mit alkalischer Phosphatase	MEPC	2 Fl. (1 Fl.) 5 ml, weiß	gebrauchsfertig	2 - 8°C	Je Flasche, 30 Tage nach Öffnen bzw. bis zum Verfallsdatum
Substratlösung (Substrate Solution), 5'Brom-4'Chlor-3'Indolyl-Phosphat-Toluoidin-Salz und 4'Nitroblaues Tetrazolium, gepuffert	MBPS3	2 Fl. (1 Fl.) 5 ml, schwarz	gebrauchsfertig	2 - 8°C vor Licht schützen	Je Flasche, 30 Tage nach Öffnen bzw. bis zum Verfallsdatum
Waschpuffer (Wash Buffer), Phosphatpuffer, pH 7,4	MWBPC	1 Beutel	in 1 Liter sterilen demineralisiertem Wasser lösen	2 - 8°C	Je Flasche, 30 Tage nach Öffnen bzw. bis zum Verfallsdatum

Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich (siehe auch unter www.milenia-biotec.de).

Erforderliche Hilfsmittel

- Personalcomputer (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), Drucker
- Flachbett-Scanner (Typen-Empfehlung auf Nachfrage)
- Biocheck Imaging Software (BIS) zur patientenorientierten Auswertung und Befunderstellung
- Schüttler (Orbitalschüttler: ca. 120 rpm)
- variable Pipette für 250 bis 1000 µl; Multipette (1 ml) zum Dispensieren der Waschlösung
- demineralisiertes Wasser
- Sterile 1-Liter-Flasche (für Waschlösung)

Probenentnahme und -vorbereitung

Serumproben können bei 2–8 °C bis zur IgE-Bestimmung maximal 3 Tage aufbewahrt werden.
Für eine längere Lagerung sollten die Seren bei –20 °C tiefgefroren werden.
Lipämische Seren sollten durch Zentrifugation geklärt werden.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Alle Reagenzien dieser Testpackung dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden. *Reagenzien verschiedener Testpackungen* dürfen nicht ausgetauscht oder gemischt werden. Die 30 Tage Haltbarkeit der Reagenzflaschen gilt immer ab deren Öffnungsdatum. Sie müssen zuerst aufgebraucht werden, bevor das nächste Fläschchen geöffnet wird. Nur das Waschpuffergranulat kann zwischen den verschiedenen Packungen ausgetauscht werden. Die Anwendung sollte durch Personal erfolgen, das speziell in Anwendung von *in-vitro*-Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die Einhaltung des vorgeschriebenen Protokolls zur Durchführung des Tests ist unbedingt erforderlich. Untersuchungsmaterial von Patienten (z.B. Plasma- oder Serumproben), wie es für Laboratoriumsuntersuchungen eingesetzt wird, ist stets als potentiell infektiös einzustufen. Proben von Risikopatienten sollten stets besonders gekennzeichnet werden und ggf. in Sicherheitswerkbänken (z. B. Laminar-Flow-Arbeitsplatz) bearbeitet werden.

Methodik und Testprinzip

Der Polycheck® Screeningtest ist ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Allergen-spezifischem IgE. Dabei sind 20 Linien von relevanten pädiatrischen, inhalativen oder Nahrungsmittel-Allergenen zusammen mit 5 Standards auf einer Trägermembran aufgebracht, die sich in der Vertiefung des Polycheck® Chips befindet. Während der Inkubation des Patientenserums bindet Allergen-spezifisches IgE an die entsprechenden Allergene. Ungebundene Serumkomponenten werden durch Waschen entfernt. Ligand-markierte anti-IgE-Antikörper binden an das gebundene Allergen-spezifische IgE. Ungebundene Antikörper werden durch Waschen entfernt. Enzym-markierter Anti-Ligand bindet an die Immunkomplexe. Überschüssiges Enzymkonjugat wird durch Waschen entfernt. Die Substratlösung wird zu gegeben. Die spezifisch gebundenen Enzyme setzen das farblose Substrat zu einem dunklen Präzipitat um. Die Farbintensität ist proportional zur jeweiligen Allergen-spezifischen IgE- Konzentration des Patientenserums. Mit Hilfe der Biocheck Imaging Auswerte-Software (BIS) einem PC und einem Flachbettscanner werden die Polycheck® Allergie-Chips ausgewertet. Die Quantifizierung in kU/L basiert auf einer auf jedem Chip mitgeführten Standardreihe.

Testdurchführung

Wichtige Hinweise

- Nur die benötigte Anzahl Chips und die benötigten Reagenzflaschen, vor Testbeginn, auf Raumtemperatur bringen.
 - Waschpuffergranulat mind. 30 Minuten vor dem ersten Ansatz in sterilem, demineralisiertem Wasser in einem sterilen Gefäß auflösen.
 - Trägermembranen während des Tests **nicht austrocknen** lassen!
 - Alle Inkubationsschritte bei Raumtemperatur (18 – 24 °C) und unter konstantem Schütteln durchführen.
1. Eine ausreichende Anzahl Polycheck® Chips vorbereiten und beschriften. Allergenträger mit **400 µl** Starterlösung (blau) überschichten und einige Sekunden inkubieren. Auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
 2. **400 µl** des Patientenserums auf die Membran pipettieren und **45 Minuten** auf einem Orbitalschüttler inkubieren.
 3. Probe abgießen und jeden Chip **dreimal mit 1 ml** Waschpuffer spülen.
Dazu werden die Chips auf die Arbeitsplatte gelegt und 1 ml Waschpuffer vorsichtig in die Vertiefung der Chips hineinpipettiert. Die Waschflüssigkeit, aus den Vertiefungen der Chips, in ein Waschbecken kippen. Danach in der gleichen Weise noch zweimal, 1 ml Waschpuffer zugeben. Anschließend auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
 4. **400 µl** Waschpuffer auf den Chip pipettieren und **5 Minuten** unter Schütteln inkubieren.
Abgießen und erneut jeden Chip mit **3x 1 ml** Waschpuffer spülen. Vorsichtig auf Papiertüchern ausklopfen.
 5. **400 µl** anti-IgE Antikörper (grün) zupipettieren und **45 Minuten** auf dem Schüttler inkubieren.

6. Abgießen und jeden Chip mit **3x 1 ml** Waschpuffer spülen. Auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
7. **400 µl** Enzym-markierten Anti-Liganden (weiß) zupipettieren und **20 Minuten** auf dem Schüttler inkubieren.
8. Abgießen und jeden Chip mit **3x 1 ml** Waschpuffer spülen. Auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
9. **400 µl** Substratlösung (schwarz) zupipettieren und **20 Minuten im Dunkeln** auf dem Schüttler inkubieren.
10. Substrat abgießen und jeden Chip mit **3x 1ml** Waschpuffer spülen. Auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
11. Polycheck®Chips **lufttrocknen** lassen.
Zur **Auswertung** am Scanner mit der BIS-Software müssen die Chips absolut **troocken** sein!

Chips können bis zu 3 Monate nach Testdurchführung gescannt werden, vorausgesetzt sie wurden lichtgeschützt und trocken bei Raumtemperatur gelagert.

Auswertung der Ergebnisse

Die Auswertung der Polycheck® Allergen Chips erfolgt mit Hilfe eines Personalcomputers und eines Flachbett-Scanners. Das Auswerteprogramm Biocheck Imaging Software (BIS) kalkuliert, dokumentiert und speichert alle Patientenergebnisse in seiner Datenbank.

Die Polycheck® Allergen Chips werden mit den Membranen nach unten auf die Glasfläche des Flachbett-Scanners aufgelegt. - Bitte Auflagemarkierung des Scanners beachten. Dann werden sie gescannt und durch die Software verarbeitet. Das Auswerteprogramm prüft die technische Qualität der Chips, die Validität der Standardkurve, ordnet die Intensitäten der Allergenbanden, in Graustufen, den Positionen der Einzelallergene des angeforderten Panels zu. BIS errechnet die Konzentrationen der allergenspezifischen IgE-Reaktionen für jedes einzelne Allergen. Für jede Patientenprobe wird ein Befundbogen erstellt; auf diesem sind alle in diesem Panel getesteten Einzelallergene mit den zugehörigen Konzentrationen an allergenspezifischem IgE aufgelistet. Die Ausgabe der Messwerte erfolgt quantitativ in internationalen Einheiten [kU IgE/l]. Die RAST-Klassen-Zuordnung zu den jeweiligen IgE-Konzentrationen sowie deren Interpretation zeigt die folgende Tabelle:

IgE [kU/l]	Klasse	Interpretation
< 0,35	0	Keine allergenspezifischen Antikörper nachweisbar
0,35 – 0,7	1	Sehr niedriger Antikörpertiter; häufig keine klinische Symptomatik, trotz Sensibilisierung
0,7 – 3,5	2	Niedriger Antikörpertiter; Sensibilisierung, häufig erst klinische Symptomatik bei Titern im oberen Bereich der Klasse 2
3,5 – 17,5	3	Deutlicher Antikörpertiter; klinische Symptomatik meist vorhanden
17,5 – 50	4	Hoher Antikörpertiter; fast immer mit bestehender Symptomatik
50 – 100	5	Sehr hoher Antikörpertiter
> 100	6	Extrem hoher Antikörpertiter

Grenzen der Methode

1. Eine endgültige klinische Diagnose sollte alle klinischen Befunde und Laborergebnisse berücksichtigen.
2. Die Allergenität von Nahrungsmittelallergenen kann durch Erhitzen (Kochen) und/oder die Verdauung verändert werden. Die Polycheck®-Ergebnisse korrelieren in diesem Fall möglicherweise nicht mit den klinischen Symptomen.
3. Durch das Vorkommen gemeinsamer antigener Determinanten bei Allergenen einer Naturstoff-Familie ist die Möglichkeit von Kreuzreaktionen nicht vollständig auszuschließen. Mit dem Polycheck®-System werden nur die angegebenen Allergen-Panels und keine anderen (kreuzreagierenden) Allergene erfasst!

Testcharakteristika

Probenmaterial:	Serum
Inkubationszeit:	2 Stunden 10 Minuten bei Raumtemperatur (18–24 °C) auf einem Rotation-/ Orbitalschüttler (120 rpm)
Untere Nachweisgrenze:	0,15 kU/l
Spezifität:	humanes IgE; keine Kreuzreaktionen mit IgG, IgA, IgD, IgM
Kalibration:	anhand von Einzelpendern und Poolseren mit definierten allergenspezifischen IgE-Konzentrationen
Methodenvergleich:	Hauttest und alternative Festphasen-Immunoassays

Kurzanleitung: Polycheck®

Schritte	Lösung	pro Chip
Pipettieren	Starter-Lösung (blau)	400 µl
Einige Sekunden inkubieren, dekantieren und auf Papiertüchern ausklopfen		
Pipettieren.	Probe	400 µl
45 min bei Raumtemperatur (RT) auf einem Orbitalschüttler inkubieren.		
Dekantieren, mit 3x 1 ml Waschpuffer (je Chip) waschen. 400 µl Waschpuffer zugeben und 5 min bei RT auf einem Orbitalschüttler inkubieren. Dekantieren, mit 3x 1 ml Waschpuffer (je Chip) waschen, auf Papiertüchern ausklopfen.	Wasch-Lösung	400 µl
Pipettieren	anti-IgE Antikörper (grün)	400 µl
45 min bei RT auf dem Schüttler inkubieren		
Dekantieren, mit 3x 1 ml Waschpuffer (je Chip) waschen, auf Papiertüchern ausklopfen.		
Pipettieren	Enzym-markierter anti-Ligand (weiß)	400 µl
20 min bei RT auf dem Schüttler inkubieren.		
Dekantieren, mit 3x 1 ml Waschpuffer (je Chip) waschen, auf Papiertüchern ausklopfen		
Pipettieren	Substrat-Lösung (schwarz)	400 µl
20 min bei RT auf dem Schüttler im Dunklen inkubieren		
Dekantieren, mit 3x 1 ml Waschpuffer (je Chip) waschen, auf Papiertüchern ausklopfen.		
Chips an der Luft trocknen lassen.		
Die trockenen Chips mit der Biocheck Imaging Software und einen Scanner auswerten.		

Vgl. auch Seite 9/10 für eine detaillierte Beschreibung der Testdurchführung.

Polycheck®

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE
English: Page 1-6

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE
Deutsch: Seite 7-11

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznej IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera
Polski: Strony 12-18

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem
Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche
Italiano: Pagine 25-30

REF:

MKPPC 1 (Z)

Pediatric Screen

MKIPC 1 (Z)

Inhalation Screen

MKFPC 1 (Z)

Food Screen

MKMPC 1 (Z)

Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH
Vorbergweg 41
D-48159 Münster
Germany

IVD

Distribution/Service:
Vertrieb/Service:
Dystrybucja /Serwis:
Distribuce/Servis:
Distribuzione/Assistenza:

Milenia Biotec GmbH
Versailler Straße 1
D-35394 Gießen, Germany
Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0
Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80
E-Mail: info@milenia-biotec.de
<http://www.milenia-biotec.de>

OFEROWANE PANELE:

Pediatriczny (MKPPC)		Oddechowy (MKIPC)		Pokarmowy (MKFPC)		Śródziemnomorski (MKMPC)	
Orzech ziemny	f13	Pyłek brzozy brodawkowej	t03	Orzech laskowy	f17	Pyłek brzozy brodawkowej	t03
Mleko	f02	Pyłek olszyny szarej	t02	Orzech ziemny	f13	Pyłek olszyny szarej	t02
Białko jaja	f01	Pyłek leszczyny	t04	Orzech włoski	f16	Pyłek leszczyny	t04
Żółtko jaja	f75	Pyłek dębu	t07	Migdał	f20	Pyłek dębu	t07
Ziemniak	f35	Tymotka łąkowa	g06	Mleko	f02	Tymotka łąkowa	g06
Marchew	f31	Pyłek żyta	g12	Białko jaja	f01	Pyłek żyta	g12
Dorsz	f03	Pyłek bylicy	w06	Żółtko jaja	f75	Pyłek ambrosji	w01
Jabłko	f49	Pyłek babki lancetowatej	w09	Kazeina	f78	Pyłek bylicy	w06
Soja	f14	D. pteronyssinus	d01	Ziemniak	f35	Pyłek babki lancetowatej	w09
Mąka pszenna	f04	D. farinae	d02	Seler	f85	Parietaria judaica	w21
Pyłek brzozy brodawkowej	t03	Naskórek psa	e02	Marchew	f31	Pyłek oliwki europejskiej	t09
Tymotka łąkowa	g06	Naskórek kota	e01	Pomidor	f25	D. pteronyssinus	d01
Pyłek bylicy	w06	Naskórek konia	e03	Dorsz	f03	D. farinae	d02
D. pteronyssinus	d01	Naskórek świnki morskiej	e06	Krewetka	f24	Naskórek psa	e02
D. farinae	d02	Naskórek chomika	e84	Brzoskwinia	f95	Naskórek kota	e01
Naskórek psa	e02	Naskórek królika	e82	Jabłko	f49	Naskórek konia	e03
Naskórek kota	e01	A. fumigatus	m03	Soja	f14	A. fumigatus	m03
Naskórek konia	e03	C. herbarium	m02	Mąka pszenna	f04	C. herbarium	m02
A. fumigatus	m03	P. nota tum	m01	Sezam	f10	P. nota tum	m01
C. herbarium	m02	A. tenuis	m06	Mąka żytnia	f05	A. tenuis	m06

Elementy zestawu, przechowywanie, stabilność

Składniki	Nr kat.	Zawartość	Przygotowanie	Przechowywanie	Trwałość
Polycheck® Panel pediatriczny, (Polycheck® Pediatric Screen) , Kasetka z naniesionymi 5 kalibratorami i 20 alergenami: f13, f02, f01, f75, f35, f31, f03, f49, f14, f04, t03, g06, w06, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02	MCPPC 1 (Z)	20 (10) Kasetek	Gotowe do użytku	2 - 8°C Chronić przed wilgocią Przechowywać ze środkiem pochłaniającym wilgoć w szczelnie zamkniętej plastikowej torebce	Do daty przydatności
Polycheck® Panel oddechowy, (Polycheck® Inhalation Screen) , Kasetka z naniesionymi 5 kalibratorami i 20 alergenami: t03, t02, t04, t07, g06, g12, w06, w09, d01, d02, e02, e01, e03, e06, e84, e82, m03, m02, m01, m06	MCIPC 1 (Z)	20 (10) Kasetek			
Polycheck® Panel pokarmowy, (Polycheck® Food Screen) , Kasetka z naniesionymi 5 kalibratorami i 20 alergenami: f17, f13, f16, f20, f02, f01, f75, f78, f35, f85, f31, f25, f03, f24, f95, f49, f14, f04, f10, f05	MCFFPC 1 (Z)	20 (10) Kasetek			
Polycheck® Panel śródziemnomorski, (Polycheck® Mediterranean Screen) , Kasetka z naniesionymi 5 kalibratorami i 20 alergenami: t03, t02, t04, t07, g06, g12, w01, w06, w09, w21, t09, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02, m01, m06	MCMPCC 1 (Z)	20 (10) Kasetek			
Roztwór startowy (Start Solution), Buforowany roztwór białka	MSPC	2 fiołki (1 fiołka) 5 mL, niebieska	Gotowy do użytku	2 - 8°C	30 dni po otwarciu, nieotwierany do daty przydatności
Przeciwciało anti-IgE (anti-IgE Antibody), monoklonalne (mysie) sprzężone z ligandem	MAPC	2 fiołki (1 fiołka) 5 mL, zielona	Gotowe do użytku	2 - 8°C	30 dni po otwarciu, nieotwierany do daty przydatności
Anty-ligand sprzężony z enzymem (Enzyme-Labeled anti-Ligand) , Ligand sprzężony z fosfatazą alkaliczną	MEPC	2 fiołki (1 fiołka) 5 mL, biała	Gotowy do użytku	2 - 8°C	30 dni po otwarciu, nieotwierany do daty przydatności
Roztwór substratu (Substrate Solution), 5'bromo-4'chloro-3' indolyl-phosphate-and 4' nitroblue tetrazolium, buforowany	MBPS3	2 fiołki (1 fiołka) 5 mL, czarna	Gotowy do użytku	2 - 8°C Chronić przed światłem	30 dni po otwarciu, nieotwierany do daty przydatności
Bufor płuczący (Wash Buffer), bufor fosforanowy, pH 7.4	MWBPC	1 (1) saszetka	Rozpuścić w 1 L demineralizowanej wody	2 - 8°C	30 dni po otwarciu, nieotwierany do daty przydatności

Karty bezpieczeństwa dostępne na życzenie (lub patrz pod adresem www.milenia-biotec.de)

WYMAGANE WYPOSAŻENIE

- Komputer osobisty (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), drukarka
- Płaski skaner (zalecany typ może być podany na życzenie)
- Program Biocheck Imaging Software (BIS) analizujący wynik, dokonujący obliczeń i redagujący raport
- Wyrząsarka (orbitalna ok. 120 rotacji na minutę)
- Pipety nastawne na 250 µL do 1000 µL; Multipipeta (1 mL) do dodawania roztworu płuczającego
- Woda demineralizowana, sterylna
- Jedno litrowa, sterylna butelka do przygotowania buforu przemycającego

POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

Próbki surowicy mogą być przechowywane w celu oznaczenia IgE maksymalnie 3 dni w temperaturze 2-8°C. Przechowywanie dłuższe wymaga zamrożenia próbki do -20°C lub do temperatur jeszcze niższych. Próbki lipemiczne powinny być klarowane przez wirowanie.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Wszystkie odczynniki przedmiotowego zestawu mogą być używane wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Odczynniki nie mogą być wymieniane ani mieszane pomiędzy różnymi zestawami.

30 dniowy termin ważności odczynników liczy się od daty otwarcia buteleczek (fiolek)

Najpierw musi być zużyta buteleczka otwarta zanim zostanie otwarta następna.

Tylko granulaty używane do przygotowywania buforu przemywającego może być wymieniany pomiędzy różnymi zestawami.

Badanie może być prowadzone tylko przez personel wykształcony i przeszkolony do pracy w diagnostyce *in vitro*.

Zaleca się bezwzględne przestrzeganie ustalonego protokołu wykonywania testu.

Materiał pochodzący od pacjentów normalnie używany do badań laboratoryjnych (np. surowica lub osocze) musi być postrzegany jako potencjalnie zakaźny.

Próbki pochodzące od pacjentów grup wysokiego ryzyka powinny być specjalnie, w widoczny sposób oznakowane i jeśli to konieczne opracowywane na stołach laboratoryjnych o podwyższonych standardach bezpieczeństwa (np. stoły z przepływem laminarnym).

METODA I ZASADA TESTU

Polycheck jest przesiewowym testem immunoenzymatycznym przeznaczonym do ilościowego oznaczania alergenowo-specyficznych przeciwciał klasy IgE. Na membranę nośną (bibułę) naniesionych jest 20 prążków z odpowiednio 20 alergenami pediatrycznymi, pokarmowymi lub oddechowymi razem z 5 kalibratorami, całość znajduje się w zagłębieniu kasetki testowej Polycheck. Podczas inkubacji surowicy pacjenta, alergenowo- specyficzne IgE obecne w próbce wiążą się z odpowiednimi alergenami na membranie. Nie związane składniki surowicy usuwane są poprzez płukanie. Następnie dodaje się odczynnik w postaci przeciwciała monoklonalnego anti-IgE sprzężonego z ligandem, który łączy się ze związanymi alergenowo-specyficznymi IgE . Nie związane przeciwciała są usuwane poprzez płukanie. Teraz dodaje się anti-ligand sprzężony z enzymem (koniugat), który wiąże się z powstałym uprzednio kompleksem immunologicznym. Nadmiar koniugatu jest odpłukiwany. Dodaje się roztwór substratu. Swoiście związane enzymy przekształcają bezbarwny substrat na ciemny precipitat.

Intensywność zabarwienia alergenowych prążków jest proporcjonalna do stężenia odpowiednich, alergenowo – specyficznych IgE w surowicy pacjentów.

Ocena intensywności zabarwienia paneli Polycheck jest dokonywana przy pomocy programu Biocheck Imaging Software (BIS), komputera i skanera obrazowego, płaskiego. Ilościowy odczyt wyników podany w KU/l bazuje na szeregu (5) kalibratorach znajdujących się na każdym panelu testowym.

WYKONANIE TESTU

Ważne wskazówki:

- Tylko konieczną do wykonania badań ilość kasetek testowych oraz buteleczki z niezbędnymi odczynnikami
- Granulat buforu przemywającego na minimum 30 minut przed pierwszym użyciem rozpuścić w sterylnym naczyniu w sterylnej, demineralizowanej wodzie.
- Nie dopuścić do wyschnięcia membrany (bibuły nośnej) podczas całego wykonywania testu.
- Wszystkie inkubacje prowadzić w temperaturze pokojowej (18-24°C) przy ciągłym wytrząsaniu.

1. Przygotować i opisać wymaganą ilość kasetek alergenowych Polycheck. Bibułę nośną zalać równomiernie 400 mikrolitrami roztworu startowego (niebieski) i inkubować kilka sekund. Wytrząsnąć kasetkę ostrożnie nad papierowym ręcznikiem.
2. Na membranę (bibułę) odpipetować 400 mikrolitrów surowicy pacjenta i inkubować przez 45 min. na włączonej wytrząsarce orbitalnej.
3. Próbkę zlać (zdekantować) i każdą kasetkę przemyć trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. W tym celu ułóż kasetki testowe na blacie roboczym i zapipetuj ostrożnie 1 ml. buforu przemywającego do rynienki. Zlej z rynienki bufor przemywający do zlewu. Potem, w ten sam sposób dodaj jeszcze dwukrotnie do rynienki po 1 ml. buforu przemywającego. Na koniec wytrząśnij ostrożnie każdą kasetkę nad papierowym ręcznikiem.

4. Zapipetuj 400 mikrolitrów buforu przemywającego do rynienki każdej kasetki i inkubuj przez 5 minut nieprzerwanie wytrząsając.
Zlej (zdekantuj) i przemyj ponownie każdą kasetkę trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. Wytrząśnij ostrożnie nad papierowym ręcznikiem
5. Dodaj 400 mikrolitrów przeciwciała anti-IgE sprzężonego z ligandem (zielone) i inkubuj na włączonej wytrząsarce 45 min.
6. Zlej (zdekantuj) i przemyj każdą kasetkę trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. Wytrząśnij ostrożnie kasetkę nad papierowym ręcznikiem.
7. Dodaj 400 mikrolitrów anti-ligandu sprzężonego z enzymem (biały) i inkubuj 20 min. na włączonej wytrząsarce.
8. Zlej (zdekantuj) i przemyj każdą kasetkę trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. Wytrząśnij ostrożnie kasetkę nad papierowym ręcznikiem.
9. Dodaj 400 mikrolitrów roztworu substratu (czarny) i inkubuj w ciemności przez 20 min. nieprzerwanie wytrząsając.
10. Zlej (zdekantuj) substrat i przemyj każdą kasetkę trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. wytrząśnij ostrożnie kasetkę nad papierowym ręcznikiem.
11. Pozostaw kasetki Polycheck do wyschnięcia na powietrzu. Zanim zaczniesz skanowanie i odczyt za pomocą programu BIS bibuła kasetek musi być zupełnie sucha.

Kasetki testowe mogą być skanowane i odczytywane na komputerze do trzech miesięcy od dnia wykonania testów pod warunkiem ich przechowywania w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła i wilgoci.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Ocena wyników kasetek alergenowych Polycheck® dokonywana jest przy pomocy komputera, programu Biocheck i skanera obrazowego płaskiego. Program Biocheck oblicza, dokumentuje i zapamiętuje wszystkie wyniki pacjentów w swojej bazie danych.

Kasetki alergenowe Polycheck® układane są membranami bibułowymi na dół na szklanej powierzchni skanera, proszę zwrócić uwagę na oznaczenie na skanerze sposobu układania skanowanych elementów. Potem kasetki są skanowane i analizowane przez program. Program sprawdza techniczną jakość kasetek, zatwierdza krzywą kalibracyjną, ocenia intensywność barwy prążków alergenowych wg. skali szarości oraz przyporządkowuje położenie poszczególnych skanowanych prążków do każdego alergenu znajdującego się na wybranym panelu.

Potem program wylicza stężenia alergenowo – specyficznych IgE dla każdego pojedynczego alergenu znajdującego się na membranie.

Dla każdej próbki pacjenta generowany jest osobny raport wyników, na którym wymienione są wszystkie testowane na danym panelu pojedyncze alergeny wraz z odpowiadającymi im, aktualnymi stężeniami alergenowo-specyficznych IgE. Wydawane pacjentom, mierzone wartości są wynikami ilościowymi podawanymi w jednostkach międzynarodowych (kU IgE/L). Ocenę wg. skali RAST związaną z odpowiadającymi jej stężeniami IgE jak również ich kliniczną interpretację przedstawia poniższa tabela.

IgE(kU/L)	Klasa	Interpretacja
< 0.35	0	Alergenowo - specyficzne przeciwciała nieoznaczalne
0.35-0.7	1	Bardzo niskie miano przeciwciał, często brak objawów klinicznych, mimo uczulenia
0.7- 3.5	2	Niskie miano przeciwciał, uczulenie, często pierwsze objawy kliniczne przy mianach w górnym zakresie klasy 2
3.5-17.5	3	Wyraźne miano przeciwciał, objawy kliniczne przeważnie obecne
17.5-50	4	Wysokie miano przeciwciał, prawie zawsze z istniejącymi, rzeczywistymi objawami klinicznymi
50-100	5	Bardzo wysokie miano przeciwciał
>100	6	Krańcowo wysokie miano przeciwciał

OGRANICZENIA METODY

1. Ostateczna diagnoza kliniczna nie powinna opierać się na wynikach pojedynczej metody diagnostycznej. Powinna uwzględniać wszystkie objawy kliniczne i wyniki wszystkich badań laboratoryjnych, powinna być dokonywana tylko przez lekarza po uwzględnieniu wszystkich danych klinicznych i laboratoryjnych.
2. Siła ekspresji alergenowej alergenów pokarmowych może ulegać zmianie pod wpływem podgrzewania (gotowania) i / lub pod wpływem trawienia. W takich przypadkach wyniki testów Polycheck mogą nie korelować z objawami klinicznymi
3. Ze względu na występowanie wspólnych determinant antygenowych w alergenach jednej rodziny produktów naturalnych, nie można całkowicie wykluczyć możliwości reakcji krzyżowych. Systemem Polycheck można objąć tylko alergeny występujące w danym panelu, żadne inne (reagujące krzyżowo) alergeny.

Charakterystyka testu

Materiał:	Surowica
Czas inkubacji:	2 godziny 10 minut w temperaturze pokojowej (18-24°C) z wytrząsaniem
Niższa granica wykrywalności:	0.15 kU/L
Specyficzność:	IgE ludzka; brak reakcji krzyżowych z IgG, IgA, IgD, IgM
Kalibracja:	Użycie surowicy od pojedynczego dawcy lub puli surowic o określonym stężeniu alergenowo-specyficznej IgE
Porównanie metod:	testy skórne i alternatywne testy immunologiczne fazy stałej.

Krótką instrukcja: Polycheck®

Krok	Roztwór	Na kasetkę
Odpipetować	Roztwór startowy (niebieska)	400 µL
Inkubować kilka sekund, zdekantować i wytrząsnąć kasetkę nad papierowym ręcznikiem.		
Odpipetować	Próbka	400 µL
Inkubować 45 min. w temperaturze pokojowej na wytrząsarce orbitalnej.		
Zdekantować, przemyć 3 x 1 ml. buforem przemywającym (każdą kasetkę). Dodać 400 µL buforu przemywającego i inkubować 5 min. w temperaturze pokojowej na wytrząsarce orbitalnej. Zdekantować przemyć 3 x 1 ml buforem przemywającym (każdą kasetkę) i wytrząsnąć kasetkę nad papierowym ręcznikiem	Bufor przemywający	400 µL
Odpipetować	Przeciwciało anty-IgE sprzężone z ligandem (zielona)	400 µL
Inkubować 45 min. w temperaturze pokojowej na wytrząsarce orbitalnej		
Zlać, płukać 3x 1mL buforu płuczącego (na kasetkę), odsączyć kasetki bibułą.		
Odpipetować	Anty-ligand sprzężony z enzymem (biała)	400 µL
Inkubować 20 min. w t. p. wytrząsając.		
Zlać, płukać 3x 1mL buforu płuczącego (na kasetkę), odsączyć kasetki bibułą.		
Odpipetować	Roztwór substratu (czarna)	400 µL
Inkubować w ciemności 20 min. w t. p. wytrząsając.		
Zlać, płukać 3x 1mL buforu płuczącego (na kasetkę), odsączyć kasetki bibułą		
Suszyć kasetki w powietrzu.		
Wynik na wysuszonych kasetkach opracowywany jest przez program Biocheck Imaging Software po wczytaniu płaskim skanerem.		

Szczegółowy opis procedury wykonania znajduje się na poprzednich stronach ulotki.

Polycheck®

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE
English: Page 1-6

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE
Deutsch: Seite 7-11

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznego IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera
Polski: Strony 12-18

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem
Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche
Italiano: Pagine 25-30

REF:

MKPPC 1 (Z)

Pediatric Screen

MKIPC 1 (Z)

Inhalation Screen

MKFPC 1 (Z)

Food Screen

MKMPC 1 (Z)

Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH
Vorbergweg 41
D-48159 Münster
Germany

IVD

Distribution/Service:
Vertrieb/Service:
Dystrybucja /Serwis:
Distribuce/Servis:
Forgalmazó/ Szerviz:
Distribuzione/Assistenza:

Milenia Biotec GmbH
Versailler Straße 1
D-35394 Gießen, Germany
Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0
Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80
E-Mail: info@milenia-biotec.de
<http://www.milenia-biotec.de>

Dostupné panely:

Pediatrický (MKPPC)		Inhalační (MKIPC)		Potravinový (MKFPC)		Mediterranean (MKMPC)	
Podzemnice olejná	f13	Pyl břízy	t03	Lískový ořech	f17	Pyl břízy / <i>Betula alba</i>	t03
Mléko	f02	Pyl olše	t02	Podzemnice olejná	f13	Pyl olše / <i>Alnus spp.</i>	t02
Vaječný bílek	f01	Pyl Lísky obecné	t04	Vlašský ořech	f16	Pyl Lísky obecné / <i>Corylus avellana</i>	t04
Vaječný žloutek	f75	Pyl dubu	t07	Mandle	f20	Pyl dubu / <i>Quercus robur</i>	t07
Brambory	f35	Bojínek luční	g06	Mléko	f02	Bojínek luční / <i>Phleum pratense</i>	g06
Mrkev	f31	Žito seté	g12	Vaječný bílek	f01	Žito seté / <i>Secale cereale</i>	g12
Treska	f03	Pelyněk černobýl	w06	Vaječný žloutek	f75	Ambrózie pelyňkolistá / <i>Ambrosia elatior</i>	w01
Jablko	f49	Jitrocel kopinatý	w09	Kasein	f78	Pelyněk černobýl/ <i>Artemisia vulgaris</i>	w06
Sójový bob	f14	<i>D. pteronyssinus</i>	d01	Brambory	f35	Jitrocel kopinatý / <i>Plantago lanceolata</i>	w09
Pšeničná mouka	f04	<i>D. farinae</i>	d02	Řapíkatý celer	f85	Drnavec palestinský / <i>Parietaria judaica</i>	w21
Pyl břízy	t03	Psí epitel	e02	Mrkev	f31	Pyl olivovníku / <i>Olea europea</i>	t09
Bojínek luční	g03	Kočičí epitel	e01	Rajče	f25	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	d01
Pelyněk černobýl	w06	Koňský epitel	e03	Treska	f03	<i>Dermatophagoides farinae</i>	d02
<i>D. pteronyssinus</i>	d01	Morčecí epitel	e06	Kreveta	f24	Psí epitel	e02
<i>D. farinae</i>	d02	Epitel křečka	e84	Broskev	f95	Kočičí epitel	e01
Psí epitel	e02	Králičí epitel	e82	Jablko	f49	Koňský epitel	e03
Kočičí epitel	e01	<i>A. fumigatus</i>	m03	Sójový bob	f14	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m03

Materiály dodávané se soupravou, uchování, stabilita

Komponenty	Kat.číslo	Obsah	Příprava	Skladování	Expirační doba
Polycheck® Pediatrický panel (Polycheck® Pediatric Screen) , Čip pokrytý 5-ti kalibrátory a 20-ti alergeny: f13, f02, f01, f75, f35, f31, f03, f49, f14, f04, t03, g03, w06, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02	MCPPC 1(Z)	20 (10) čipů	Připraveno k použití	2 - 8 °C Chraňte před vlhkem! Skladujte s desikantem v důkladně uzavřeném plastovém sáčku	Do data expirace
Polycheck® Inhalační panel (Polycheck® Inhalation Screen) , Čip pokrytý 5-ti kalibrátory a 20-ti alergeny: t03, t02, t04, t07, g06, g12, w06, w09, d01, d02, e02, e01, e03, e06, e84, e82, m03, m02, m01, m06	MCIPC 1 (Z)	20 (10) čipů			
Polycheck® Potravinový panel (Polycheck® Food Screen) , Čip pokrytý 5-ti kalibrátory a 20-ti alergeny: f17, f13, f16, f20, f02, f01, f75, f78, f35, f85, f31, f25, f03, f24, f95, f49, f14, f04, f10, f05	MCFPC 1 (Z)	20 (10) čipů			
Polycheck® Mediterranean Panel (Polycheck® Mediterranean Screen) , Čip pokrytý 5-ti kalibrátory a 20-ti alergeny: t03, t02, t04, t07, g06, g12, w01, w06, w09, w21, t09, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02, m01, m06	MCMPC 1 (Z)	20 (10) čipů			
Startovací roztok (Start Solution), pufrovaný proteinový roztok	MSPC	1 lahvička (modrá) 10 (5) mL	Připraveno k použití	2 - 8 °C	30 dní po otevření, resp. do data expirace
anti-IgE Protílátka (anti-IgE Antibody), monoklonální (myší) protílátka značená ligandem	MAPC	1 lahvička (zelená) 10 (5) mL	Připraveno k použití	2 - 8 °C	30 dní po otevření, resp. do data expirace
Anti-Ligand značený enzymem (Enzyme-Labeled anti-Ligand) , Ligand konjugovaný s alkalickou fosfatázou	MEPC	1 lahvička (bílá) 10 (5) mL	Připraveno k použití	2 - 8 °C	30 dní po otevření, resp. do data expirace
Roztok substrátu (Substrate Solution), 5'-bromo-4'-chloro-3'-indolyl-phosphate-and 4'-nitroblue tetrazolium, pufrovaný roztok	MBPS3	1 lahvička (černá) 10 (5) mL	Připraveno k použití	2 - 8 °C Chraňte před světlem!	30 dní po otevření, resp. do data expirace
Promývací roztok (Wash Buffer), fosfátový pufr, pH 7.4	MWBPC	1 (1) sáček	Rozpusťte v 1 litru demineralizované vody	2 - 8 °C	30 dní po otevření, resp. do data expirace

MSDS jsou dostupné na našich webových stránkách (www.milenia-biotec.de), nebo na vyžádání.

Potřebný materiál

- osobní počítač (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), tiskárna
- skener (typ doporučíme na vyžádání)
- Biocheck Image Software (BIS) pro analýzu vzorků dle pacientů, výpočet a report
- třepačka (orbitální třepačka: cca. 120 rpm)
- nastavitelná pipeta s přesností od 250 µl do 1000 µL; multikanálová pipeta (1 mL) pro pipetování promývacího roztoku
- sterilní demineralizovaná voda
- sterilní litrová láhev (pro zředěný promývací roztok)

Získání vzorku a příprava

Získané vzorky mohou být uchovávány zchlazené při 2-8 °C maximálně 3 dny. Pro delší uchovávání by vzorky měly být zmrazeny při -20°C nebo níže. Zamezte opakovanému zmrazování a rozmrazování. Lipemická séra by měla být před zahájením stanovení odstředěna.

Upozornění a bezpečnostní opatření

Všechny reagenty v této soupravě jsou určeny pouze pro použití *in vitro*. Se soupravou by měl pracovat pouze personál odborně způsobilý a speciálně vyškolený v manipulaci s diagnostickými metodami *in vitro*. Striktně dodržujte pořadí pipetovacích kroků, které jsou uvedeny v tomto protokolu.

Vzorky pacientů (např. sérum nebo plazma), které se používají v laboratorních stanoveních, jsou vždy klasifikovány jako potenciálně infekční materiály. Vzorky rizikových pacientů by měly být speciálně označené a v případě nutnosti uložené v bezpečnostním boxu (v laminárním boxu).

Metoda a princip stanovení

PolyCheck screening je enzymoimuno-analytická metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek. Nosná membrána, která je umístěna v jamce testovací jednotky PolyCheck, je pokryta 20-ti druhy vybraných pediatrických, potravinových nebo inhalačních alergenů a 5-ti kalibrátory. Během inkubační doby se alergen specifické IgE vzorku pacienta naváže na příslušné alergeny. Nenavázané komponenty séra jsou odstraněny vymytím. Anti-IgE protilátky značené ligandem jsou navázané na IgE protilátky navázané na alergen. Nenavázané protilátky jsou následně odstraněny vymytím. Enzymaticky značený anti-Ligand je dále navázan na vzniklé imunokomplexy; zbytek enzymatického konjugátu je odstraněn vymytím. Nyní je přidán substrát a specificky navázané enzymy způsobují konverzi bezbarvého roztoku na tmavý precipitát. Barevná intenzita (alergen-) proužků je úměrná koncentraci příslušných alergen specifických IgE protilátek v pacientově séru.

Testovací jednotky PolyCheck jsou interpretovány pomocí programu BioCheck Image Software (BIS), počítače a skeneru. Každý jednotlivý alergen bude identifikován a podle kalibrační křivky přítomné v každé testovací jednotce (čipu) bude kvantifikována koncentrace (kU/L) specifických IgE u jednotlivých alergenů.

Postup stanovení

Důležitá upozornění:

- Všechny komponenty testu by měly být před použitím v pokojové teplotě a dobře promíchány.
- Promývací roztok v prášku by měl být naředěn demineralizovanou vodou a to nejméně 30 minut před použitím
- Nenechte během metody vyschnout membrány testovacího zařízení.

Všechny inkubační kroky se provádí při pokojové teplotě (18 – 24 °C) a při neustálém třepání.

1. Připravte si adekvátní počet Polycheck® alergen čipů a označte je.
Aplikujte (překryjte vrstvou) 400 µl startovacího roztoku (modrý) na alergenové čipy (testovací jednotky) a inkubujte několik vteřin. Opatrně osušte čipy absorpčním papírem.
2. Přidejte **400 µL** příslušného vzorku pacienta a inkubujte **45 minut** v třepačce.
3. Slijte vzorek a promyjte jej **tříkrát** s **1 ml** promývacího roztoku.
Při této proceduře položte čip na pracovní plochu a opatrně napipetujte 1 ml promývacího roztoku do jamky čipu. Vylijte promývací roztok z jamky do umyvadla. Tento postup opakujte ještě dvakrát. Po ukončení promývání opatrně osušte čipy absorpčním papírem.
4. Přidejte **400 µL** promývacího roztoku do každého čipu a inkubujte **5 minut** v třepačce.
Slijte a opět promyjte každý čip **3x s 1 ml** promývacího roztoku. Čipy opatrně osušte absorpčním papírem.
5. Napipetujte **400 µL** IgE protilátky (zelená) a inkubujte **45 minut** v třepačce.
6. Slijte a promyjte každý čip **3x s 1 ml** promývacího roztoku. Opatrně osušte absorpčním papírem.
7. Přidejte **400 µL** anti-Ligandu značeného enzymem (bílý) a inkubujte **20 minut** v třepačce.
8. Slijte a promyjte každý čip **3x s 1 ml** promývacího roztoku. Opatrně osušte absorpčním papírem.
9. Napipetujte **400 µL** roztoku substrátu (černý) a inkubujte **20 minut v temnu** na třepačce.
10. Slijte a promyjte každý čip **3x s 1 ml** promývacího roztoku. Opatrně osušte absorpčním papírem.
11. Ponechte Polycheck čipy **volně uschnout**. Membrány musí být při vyhodnocování pomocí skeneru a BIS softwaru **suché!**
Čipy mohou být vyhodnocovány po dobu maximálně 3 měsíců, musí být uchovávány při pokojové teplotě a chráněny před světlem a vlhkem.

Interpretace výsledků

Pro vyhodnocení Polycheck® alergen čipů použijte počítač a připojený skener. Vyhodnocovací software BioCheck Image Software (BIS) analyzuje a dokumentuje všechny pacientovy výsledky.

PolyCheck alergen čipy umístěte spodní/podložní stranou nahoru (vzhůru nohama) do skeneru a poté jsou odečteny softwarem. – Prosím, všimněte si orientace nálepky na povrchu.

BIS-vyhodnocovací program techniku čipu, ověřuje validitu kalibrační křivky a rozmězí intenzity na šedivé stupnici a přiřadí odpovídající alergen na určitou pozici skenovaného proužku a vypočítá koncentraci specifických IgE pro každý alergen na membráně. Zpráva o pacientovi je vytvořena pro každý pacientův vzorek a obsahuje seznam všech testovaných alergenů a koncentrací příslušných alergen specifických IgE. Kvantitativní výsledky jsou uváděny v mezinárodních jednotkách [kU IgE/l]. Koncentrace IgE je rozdělena do 7 tříd (RAST třídy) a jejich související klinická interpretace je uvedena níže:

IgE [kU/L]	Třída	Interpretace
< 0.35	0	Nebyla detekována specifická protilátka
0.35 – 0.7	1	Velmi nízký titr protilátek; často bez klinických příznaků senzibilizace
0.7 – 3.5	2	Nízký titr protilátek; senzibilizace, klinické příznaky se projevují často při hodnotách u horní hranice této třídy
3.5 – 17.5	3	Průkazný titr protilátek; klinické příznaky jsou většinou přítomny
17.5 – 50	4	Vysoký titr protilátek; téměř vždy s klinickou symptomatologií
50 – 100	5	Velmi vysoký titr protilátek
> 100	6	Extremně vysoký titr protilátek

Omezení metody

1. V konečné klinické diagnóze by měly být zohledněny všechny laboratorní nálezy a klinické výsledky.
2. Alergenicitá potravinových alergenů může být ovlivněna vařením a/nebo trávením. Následkem toho nemusí výsledky testu Polycheck odpovídat klinickému nálezu.
3. Díky výskytu běžných antigenních determinant v určitých alergenech příbuzné biologické rodiny nelze zcela vyloučit možnost zkřížených reaktivit. Polycheck systémem mohou být deklarovány pouze alergeny na panelu, ale ne další alergeny (zkřížených reaktivit)!

Charakteristika metody

Vyšetřovaný materiál:	sérum
Inkubační doba:	2 hodiny a 10 minut při pokojové teplotě (18-24°C) ve třepačce
Nižší limit detekce:	0,15 kU/L
Specifičnost:	lidský IgE, žádná zkřížená reakce s IgG, IgA, IgD, IgM
Kalibrace:	použitím vzorků sér jednotlivých pacientů a vzorků sér s definovanými koncentracemi specifických IgE
Srovnání metody:	kožní test a alternativní imuno-analytická souprava

Stručný návod: Polycheck®

Kroky	Roztok	Na 1 čip
Napipetujte	Startovací roztok (modrý)	400 µl
Inkubujte několik vteřin, slijte a osušte absorpčním papírem		
Napipetujte	Vzorek	400 µl
Inkubujte 45 min při pokojové teplotě (PT) v třepačce.		
Slijte, promyjte 3x s 1mL promývacího roztoku (na jeden čip). Přidejte 400 µL promývacího roztoku a inkubujte 5 min při PT v třepačce. Slijte, promyjte 3x s 1mL promývacího roztoku, osušte čipy absorpčním papírem.	Promývací roztok	400 µl
Napipetujte	Anti-IgE značený ligandem (zelený)	400 µl
Inkubujte 45 min při PT v třepačce.		
Slijte, promyjte 3x s 1mL promývacího roztoku (na jeden čip), osušte čipy absorpčním papírem.		
Napipetujte	Anti-ligand značený enzymem (bílý)	400 µl
Inkubujte 20 min při PT v třepačce.		
Slijte, promyjte 3x s 1mL promývacího roztoku (na jeden čip), osušte čipy absorpčním papírem.		
Napipetujte	Roztok substrátu (černý)	400 µl
Inkubujte 20 min při PT v třepačce v temnu		
Slijte, promyjte 3x s 1mL promývacího roztoku (na jeden čip), osušte čipy absorpčním papírem.		
Nechte čipy volně uschnout.		
Suché čipy vyhodnoťte pomocí Biocheck Imaging Softwaru a skeneru.		

Detailní postup naleznete také na straně 22/23.

Polycheck[®]

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE
English: Page 1-6

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE
Deutsch: Seite 7-12

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznej IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera
Polski: Strony 13-18

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem
Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche
Italiano: Pagine 25-30

REF:

MKPPC 1 (Z)

Pediatric Screen

MKIPC 1 (Z)

Inhalation Screen

MKFPC 1 (Z)

Food Screen

MKMPC 1 (Z)

Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH
Vorbergweg 41
D-48159 Münster
Germany

IVD

Vertrieb/Service:
Dystrybucja /Serwis:
Distribuce/Servis:
Distribuzione/Assistenza:

Milenia Biotec GmbH
Hohe Straße 4-8
D-61231 Bad Nauheim, Germany
Tel.: +49-(0)6032-8040-0
Fax: +49-(0)6032-8040-80
E-Mail: info@milenia-biotec.de
<http://www.milenia-biotec.de>

Pannelli Disponibili:

Pediatico (MKPPC)		Inalatorio (MKIPC)		Alimentare (MKFPC)		Mediterraneo (MKMPC)	
Arachide	f13	Betulla	t03	Nocciola	f17	Betulla / <i>Betula alba</i>	t03
Latte	f02	Ontano	t02	Arachide	f13	Ontano / <i>Alnus spp.</i>	t02
Albume	f01	Nocciolo	t04	Noce	f16	Nocciolo / <i>Corylus avellana</i>	t04
Tuorlo	f75	Quercia	t07	Mandorla	f20	Quercia / <i>Quercus robur</i>	t07
Patata	f35	Phleum Pratense	g06	Latte	f02	<i>Phleum pratense</i>	g06
Carote	f31	Segale	g12	Albume	f01	Segale / <i>Secale cereale</i>	g12
Merluzzo	f03	Artemisia Vulg.	w06	Tuorlo	f75	Ambrosia / <i>Ambrosia elatior</i>	w01
Mela	f49	Lanciuola	w09	Caseina	f78	<i>Artemisia vulgaris</i>	w06
Soia	f14	<i>D. pteronyssinus</i>	d01	Patata	f35	Lanciuola / <i>Plantago lanceolata</i>	w09
Farina di grano	f04	<i>D. farinae</i>	d02	Sedano	f85	Parietaria / <i>Parietaria judaica</i>	w21
Betulla	t03	Epitelio di cane	e02	Carota	f31	Olivo / <i>Olea europea</i>	t09
Phleum Pratense	g03	Epitelio di gatto	e01	Pomodoro	f25	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	d01
Artemisia Vulg.	w06	Epitelio di cavallo	e03	Merluzzo	f03	<i>Dermatophagoides farinae</i>	d02
Derm. Pteroyss.	d01	Epitelio di cavia	e06	Gamberi	f24	Epitelio di cane	e02
<i>D. farinae</i>	d02	Epitelio di criceto	e84	Pesca	f95	Epitelio di gatto	e01
Epitelio di cane	e02	Epitelio di coniglio	e82	Mela	f49	Epitelio di cavallo	e03
Epitelio di gatto	e01	<i>A. fumigatus</i>	m03	Soia	f14	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m03
Epitelio di cavallo	e03	<i>C. herbarum</i>	m02	Grano	f04	<i>Cladosporium herbarum</i>	m02
<i>A. fumigatus</i>	m03	<i>P. notatum</i>	m01	Sesamo	f10	<i>Penicillium notatum</i>	m01
<i>C. herbarum</i>	m02	<i>A. tenuis</i>	m06	Segale	f05	<i>Alternaria tenuis</i>	m06

Materiale fornito, conservazione e stabilità

Componenti	Cat.-No.	Contenuto	Preparazione	Conservazione	Stabilità
Polycheck Screening Pediatrico "PolyCheck Pediatric Screen / Demo Screen", contenente 5 calibratori e 20 allergeni: D1, D2, E1, E2, E3, F1, F2, F3, F4, F13, F14, F31, F35, F49, F75, G6, M2, M3, T3, W6	MCPPC 1 (Z)	20 (10) Card	Pronto all'uso	2 - 8 °C Proteggere dall'umidità! Conservare con essiccante e in buste di plastica sigillate	Fino alla data di scadenza
PolyCheck Screening Inalatorio, "PolyCheck Inhalation Screen", Card contenente 5 calibratori e 20 allergeni: D1, D2, E1, E2, E3, E6, E82, E84, G6, G12, M1, M2, M3, M6, T2, T3, T4, T7, W6, W9	MCIPC 1 (Z)	20 (10) Card			
PolyCheck Screening Alimenti, „PolyCheck Food Screen“, Card contenente 5 calibratori e 20 allergeni: F1, F2, F3, F4, F5, F10, F13, F14, F16, F17, F20, F24, F25, F31, F35, F49, F75, F78, F85, F95	MCFPC 1 (Z)	20 (10) Card			
PolyCheck Screening Mediterraneo „PolyCheck Mediterranean Screen“, Card contenente 5 calibratori e 20 allergeni: D1, D2, E1, E2, E3, G6, G12, M1, M2, M3, M6, T2, T3, T4, T7, T9, W1, W6, W9, W21	MCMPC 1 (Z)	20 (10) Chips			
Soluzione Starter „Start Solution“, Soluzione proteica tamponata	MSPC	2 flaconi (1 flacone) 5 mL, blu	Pronto all'uso	2 - 8 °C	30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza
Anticorpo anti-IgE „anti-IgE Antibody“, Anticorpo monoclonale (murino) marcato con legante	MAPC	2 flaconi (1 flacone) 5 mL, verde	Pronto all'uso	2 - 8 °C	30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza
Anti-legante coniugato all'enzima „Enzyme-Labeled anti-Ligand“, Legante coniugato a fosfatasi alcalina	MEPC	2 flaconi (1 flacone) 5 mL, bianco	Pronto all'uso	2 - 8 °C	30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza
Soluzione substrato „Substrate Solution“, 5'bromo-4'cloro-3' indolyl-fosfato e blu di 4' nitro-tetrazolio tamponato	MBPS3	2 flaconi (1 flacone) 5 mL, nero	Pronto all'uso	2 - 8 °C proteggere dalla luce	30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza
Tampone lavaggio „Wash Buffer“, tampone fosfato, pH 7.4	MWBPC	1 (1) busta)	sciogliere il contenuto di una busta in 1 litro di acqua deion..	2 - 8 °C evitare la formazione di schiuma	30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza

Le schede di sicurezza sono disponibili a richiesta (consultare www.milenia-biotec.de).

Materiale richiesto

- personal computer (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), stampante
- scanner piatto (modelli adeguati su richiesta)
- Biocheck Imaging Software (BIS) in grado di fornire analisi per paziente, calcolo e referto
- Agitatore (agitatore rotativo: circa 120 rpm)
- micropipetta regolabile da 250 a 1000 µL ; Multipette (1 mL) per dispensare la soluzione di lavaggio
- acqua deionizzata
- bottiglia da un litro (per preparare la soluzione di lavaggio)

Raccolta e preparazione del campione

Campioni di sieri possono essere conservati a 2 - 8 °C per 3 giorni. Per periodi più lunghi congelare a -20 °C. Evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti. Sieri lipemici devono essere centrifugati prima del test.

Avvertimenti e precauzioni

Tutti i reattivi di questo kit sono tassativamente da intendersi solo per uso diagnostico *in vitro*.

Non sostituire o mescolare reagenti di confezioni diverse. La stabilità dei reagenti (30 giorni) si intende dall'apertura dei flaconi. I contenitori già aperti vanno utilizzati completamente prima di aprire un nuovo contenitore! Solo il tampone in polvere può essere utilizzato per kit diversi.

Il kit va utilizzato da personale particolarmente addestrato all'uso di metodologie diagnostiche *in vitro*. Preghiamo di seguire alla lettera lo schema di lavoro indicato in questa procedura.

I campioni dei pazienti (ad esempio siero o plasma) usati nei test di laboratorio sono sempre da considerarsi come potenzialmente infetti. Campioni di pazienti a rischio vanno etichettati in modo evidente e, se necessario, maneggiati in banchi di lavoro con dispositivi di sicurezza (per esempio banchi con cappe a flusso laminare).

Metodo e principio del test

Il test di screening Polycheck® è un test immunoenzimatico per la misurazione quantitativa di IgE specifiche. 20 linee di allergeni importanti di uso pediatrico o alimentare o inalatorio sono fissate sulla membrana di supporto insieme a 5 calibratori, la membrana è alloggiata in un pozzetto della Polycheck® card. Nel corso dell'incubazione del siero in esame le IgE allergene-specifiche si legano ai corrispondenti allergeni. Le componenti del siero non legate sono rimosse attraverso il lavaggio. Gli anticorpi leganti anti-IgE si legano al complesso allergeni-IgE. Gli anticorpi non legati vengono rimossi con il lavaggio. Infine gli anticorpi anti-leganti marcati con enzima si legano agli immuno-complessi; l'eccesso di marcato con enzima è rimosso dal lavaggio. Viene aggiunta la soluzione substrato e l'enzima legato trasforma il substrato incolore in un precipitato scuro. L'intensità delle linee colorate ottenute è proporzionale alla concentrazione delle IgE specifiche corrispondenti.

Con l'aiuto del Biocheck Imaging Software (BIS), di un PC e di uno scanner le Polycheck® card sono interpretate. Ogni singolo allergene viene identificato ed in base alla curva di calibrazione presente in ogni card si ottiene il dosaggio quantitativo delle IgE specifiche presenti.

Esecuzione del test

Osservazioni importanti:

- Tutti i componenti del kit devono essere portati a temperatura ambiente prima dell'uso e mescolati con cura.
 - Il tampone di lavaggio deve essere sciolto con acqua deionizzata almeno 30 minuti prima dell'uso.
 - Non lasciare che la membrana della card si asciughi durante l'esecuzione del test.
 - Tutte le fasi di incubazione vanno effettuate a temperatura ambiente (18 - 24 °C) e con agitazione costante.
1. Preparare un numero di Polycheck® card necessarie e contrassegnarle. Riempire il pozzetto delle card con **400 µL** di Starter Solution (blu) e incubare per pochi secondi. Asciugare le card battendola su un foglio di carta assorbente.
 2. Aggiungere **400 µL** di siero dei pazienti e incubare per **45 minuti** su un agitatore.

3. Eliminare il siero e lavare **tre volte** con **1 mL** tampone lavaggio.
A questo scopo, porre la card sul piano di lavoro ed aggiungere con attenzione 1 ml di tampone lavaggio nella cavità apposita. Eliminare la soluzione di lavaggio. Ripetere l'operazione analogamente altre due volte con 1 ml di tampone lavaggio. Al termine è necessario asciugare le card battendo su carta assorbente.
4. Pipettare **400 µL** di soluzione lavaggio in ogni card e incubare **5 minuti su agitatore**.
Vuotare e lavare ancora **3x con 1 ml** di soluzione lavaggio.
5. Pipettare **400 µL** di soluzione anticorpo anti-IgE (verde) e incubare per **45 minuti su agitatore**.
6. Eliminare e lavare **tre volte** con **1 mL** tampone lavaggio. Battere le card su carta assorbente
7. Aggiungere **400 µL** di soluzione Enzyme-labeled Anti-Ligand (bianco) e incubare per **20 minuti** su agitatore.
8. Eliminare e lavare **tre volte** con **1 mL** tampone lavaggio. Asciugare accuratamente la card con percussione sulla carta assorbente.
9. Pipettare **400 µL** soluzione substrato (nero) e incubare **20 minuti al buio su agitatore**.
10. Eliminare la soluzione substrato e lavare **tre volte** con **1 mL** tampone lavaggio.
Asciugare le card ripetendo l'operazione di percussione sulla carta assorbente.
11. **Asciugare** la Card Polycheck® con aria calda. Per la lettura utilizzando lo scanner **deve essere asciutta!**
Le card possono essere lette fino a tre mesi, se conservate a temperatura ambiente e al riparo da luce e umidità

Interpretazione dei risultati

Per la lettura della Polycheck® allergen card vengono utilizzati un PC e uno scanner piatto. Il software di valutazione BioCheck Image Software (BIS) analizza e documenta tutti i risultati dei pazienti.

Le Polycheck® Allergen card sono posizionate a faccia in giù sullo scanner e lette per mezzo del software specifico. Preghiamo di voler seguire l'orientamento sull'etichetta. Il programma di valutazione controlla la validità della curva di calibrazione, assegna all'allergene corrispondente ogni posizione delle bande acquisite dallo scanner e calcola le concentrazioni delle IgE specifiche per ciascun allergene. Uno specifico referto è generato per ogni paziente, elencando gli allergeni testati e la concentrazione delle IgE specifiche presenti. I risultati sono riportati quantitativamente in Unità Internazionali [kU IgE/l]. Le classi corrispondenti alle rispettive concentrazioni di IgE e la loro interpretazione clinica sono elencate qui sotto:

IgE [kU/L]	Classe	Descrizione
< 0.35	0	Nessuna evidenza di anticorpi
0.35 – 0.7	1	Anticorpi molto deboli , spesso assenza di sintomi
0.7 – 3.5	2	Debole presenza di anticorpi , sensibilizzazione presente, evidenza clinica solo al livello superiore di questa classe
3.5 – 17.5	3	Chiara presenza di anticorpi , evidenza clinica frequente
17.5 – 50	4	Forte presenza di anticorpi , evidenza clinica quasi sempre presente
50 – 100	5	Presenza molto forte di anticorpi
> 100	6	Titolo anticorpale estremamente alto

Limiti del metodo

1. Per una diagnosi clinica completa tutti i sintomi clinici e i risultati di laboratorio devono essere presi in considerazione.

2. Il potere allergenico degli allergeni alimentari può essere influenzato dalla cottura o dalla digestione. Di conseguenza il test Polycheck® può risultare non coerente con la storia clinica del paziente.
3. A causa della presenza di determinanti antigenici comuni in alcuni allergeni di una famiglia di composti naturali, non è completamente da escludere la possibilità cross-reazioni. Con il test Polycheck® è possibile dosare solo gli allergeni indicati, non altri allergeni che crossreagiscono.

Caratteristiche del test

Campione:	siero
Tempo di Incubazione:	2 ore e 10 minuti a temperatura ambiente (18-24 °C) su agitatore
Limite di sensibilità:	0.15 kU/L
Specificità	IgE umane; nessuna cross-reazione con IgG, IgA, IgD, IgM
Calibrazione:	contro sieri di donatori singoli o pool di sieri con concentrazioni note di singole IgE specifiche
Confronto tra metodi:	test cutanei e solid phase immunoassays alternativi

Metodica breve: Polycheck®

Fasi	Reagenti	per Card
Pipettare	Soluzione Starter (blu)	400 µL
Incubare pochi secondi, vuotare e battere le card su carta assorbente		
Pipettare	Campione	400 µL
Incubare 45 min a temperatura ambiente (RT) su agitatore		
Vuotare, lavare 3 x con 1 mL tampone lavaggio (per card)		
Aggiungere 400 µL tampone lavaggio e incubare 5 min a RT su agitatore	Tampone lavaggio	
Vuotare, lavare 3 x con 1 mL tampone lavaggio, battere le card su carta assorbente		
Pipettare	Ligand-labeled anti-IgE (verde)	400 µL
Incubare 45 min a TA su agitatore		
Vuotare, lavare 3 x con 1 mL tampone lavaggio, battere le card su carta assorbente		
Pipettare	Enzyme-labeled anti-Ligand (bianco)	400 µL
Incubare 20 min a TA su agitatore		
Vuotare, lavare 3 x con 1 mL tampone lavaggio, battere le card su carta assorbente		
Pipettare	Soluzione Substrato (nero)	400 µL
Incubare 20 min a TA su agitatore al buio		
Vuotare, lavare 3 x con 1 mL tampone lavaggio, battere le card su carta assorbente		
Asciugare con aria		
Leggere le card asciutte utilizzando BioCheck Imaging Software e uno scanner		

Per una descrizione dettagliata della procedura vedi anche a pagine 28/ 29.

