Verwendungszweck

Der Biocard™ Celiac Test ist ein immunochromatographischer Test zur qualitativen Bestimmung von Anti-Gewebetransglutaminase IgA Antikörpern aus Kapillarblut der Fingerspitze und dient ausschließlich der professionellen Anwendung.

Einleitung

Die Zöliakie ist eine ernstzunehmende gastrointestinale Erkrankung, die sich lebenslang manifestiert. Zu den klinisch relevanten Symptomen zählen Durchfälle, Blähungen, Mangelerscheinungen, Gewichtsverlust und spezielle Hauterkrankungen (Dermatitis herpetiformis), die alle Folge einer dauerhaften Unverträglichkeit gegenüber Gluten, einer komplexen Mischung von Eiweißproteinen aus Getreide wie Weizen, Roggen oder Reis, sind.

Zur Diagnostik werden verschiedene Verfahren eingesetzt. Dazu zählen zunächst die Erkennung der klinischen Syptomatik, die Suche nach für die Zöliakie typischen Antikörpern, verschiedene spezifische HLA Antigene und die für diese Erkrankung charakteristischen histologischen Veränderungen. Darüber hinaus können serologische Tests für das Screening und zur Kontrolle einer glutenfreien Ernährung nützlich sein. Die Mehrheit der von der Zöliakie Betroffenen zeigen keine oder nur eine gering ausgeprägte Symptomatik, sodass der Einsatz der gerade erwähnten nicht-invasiven serologischen Tests hier besonders sinnvoll ist. Screening Studien, die diesen Verfahren zugrunde liegen, haben gezeigt, dass die Häufigkeit dieser Erkrankung in europäischen Ländern bei über 1:100 liegen kann.

Die Anwesenheit spezifischer, gegen das Enzym gewebespezifische Transglutaminase (tTG) gerichteter Antikörper ist ein strenger Indikator für das Vorliegen einer Zöliakie. Der Biocard™ Celiac Test ist einzigartig und basiert auf einer patentierten Technologie. Dabei wird das Vollblut eines Patienten zunächst gesammelt und anschließend nach Überführung in ein mit Puffer versetztes Proberöhrchen verdünnt. Die natürliche gewebespezifische Transglutaminase (tTG), die sich in den roten Blutkörperchen des Patienten befindet, wird freigesetzt und bindet sich an die IgA Autoantikörper, die in der Plasmafraktion des Blutes zirkulieren. Dieser Komplex wird dann mittels einer artifiziellen Bindegewebsschicht auf der Oberfläche der Testkasette gebunden.

Testprinzip

Der Biocard™ Celiac Test ist ein immunochromatographischer Schnelltest, der zöliakiespezifische anti-tTG IgA Antikörper aus einer Vollblutprobe detektiert. Sind anti-tTGA IgA Antikörper vorhanden binden diese an mit kolloidalem Gold markierte anti-IgA Antikörper und an die bei der Lyse der Erythrozyten durch Verdünnung freigesetzte Transglutaminase, die ihrerseits den Gesamtkomplex an die stationäre Phase bindet und dadurch eine sichtbare rote Testlinie erzeugt. Der Test beinhaltet auch ein zusätzliches Kontrollsystem zur Bestimmung der Gesamt-IgA-Menge. Das Erscheinen einer roten Linie im Kontrollfenster zeigt an, dass sich IgA Antikörper in der Probe befinden. Entsprechend sind falsch negative Ergebnisse infolge eines IgA-Mangels ausgeschlossen.

Zur Durchführung des Tests wird lediglich ein Tropfen Blut aus der Fingerspitze benötigt (10 µl) und die Testdauer beträgt zwischen 5 und 10 Minuten.

Der Test kann als Hilfsmittel zur Diagnose einer Glutenunverträglichlkeit (Zöliakie) herangezogen werden, aber eignet sich auch zur Verlaufskontrolle einer glutenfreien Diät.

Inhalt

-10 Aluminiumbeutel mit je einer Testkasette Σ 10 tests

-10 Mikropipetten mit 10 µl Füllmarke in einem Aluminiumbeutel M-PIP

-10 automatische sterile Lanzetten LANC STERILE R
(HTL-STREFA S.A., Adamówek 7, 95-035 Ozorków, Poland CE0344)

-10 mit Alkohol getränkte Tupfer SWAB

-10 Gefäße gefüllt mit 0,5 ml Verdünnungspuffer DIL SAMP

- Phosphatgepufferte Kochsalzlösung	0,01M
- Detergenz	< 1,00 %
- Natriumazid	0,09 %

-Gebrauchsanweisung

Probenmaterial

Als Probenenmaterial zur Durchführung des Biocard™ Celiac ist Kapillarblut vorgesehen. Dennoch kann auch intravenöses (IV) Vollblut für den Test verwendet werden. Wird IV-Vollblut zur Analytik eingesetzt, beginnt die Testprozedur bei Schritt 5 durch Zugabe von 10µl Vollblut in das Gefäß mit dem Verdünnungspuffer. Daraus ergibt sich ein Verdünnungsfaktor von 1:50 für die Probe.
IV-Blutproben sollten innerhalb eines Tages analysiert werden und müssen zur späteren Verwendung eingefroren werden. Als Blutsammelgefäße eignen sich EDTA- oder Citrat-Röhrchen. Verdünnte Proben (IV oder Kapillarblut) sollten nur innerhalb eines Arbeitstages verwendet werden.

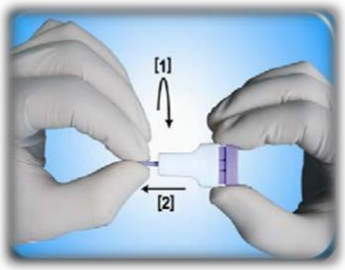
Testdurchführung

Lesen Sie bitte vor der Durchführung des Tests die Gebrauchsanweisung sorgfältig durch. Zur Durchführung des Biocard™ Celiac Tests wird zusätzlich ein Stoppuhr zur

Zeiterfassung benötigt. Es wird empfohlen, den Test an einem gut beleuchteten Ort durchzuführen.

Alle zur Testdurchführung benötigten Komponenten sollten Raumtemperatur haben. Vor der Blutentnahme sollten Sie alle Testkomponeneten zum Gebrauch direkt vor sich legen: Die automatische Lanzette, den mit Alkohol getränkten Tupfer, das Gefäß mit dem Verdünnungspuffer, die Mikropipette und die Testkasette. Danach öffnen Sie das Gefäß mit dem Verdünnungspuffer.

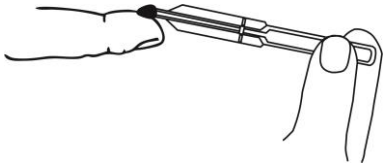
1. Drehen Sie die blaue dünne Schutzkappe der automatischen Lanzette mit eine Vierteldrehung ab und ziehen Sie die Stechhilfe gerade heraus.



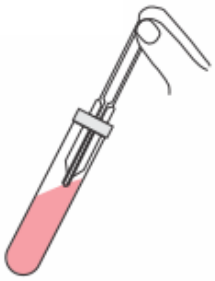
2. Massieren Sie die Fingerspitze behutsam und säubern Sie diese anschließend mit dem Alkohol-getränkten Tupfer. Warten Sie, bis die Fingerspitze wieder trocken ist.

3. Drücken Sie die automatische Lanzette mit der runden Öffnung fest gegen die gesäuberte Fingerspitze und betätigen Sie zur Auslösung der Nadel den blauen Druckknopf. Der Einstich erfolgt praktisch schmerzfrei.

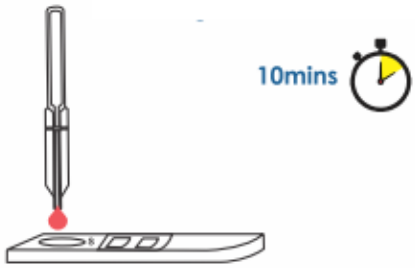
4. Öffnen Sie den Aluminiumbeutel mit den Mikropipetten und entnehmen Sie eine davon. Halten Sie den Finger tiefer als den Ellenbogen und drücken Sie einen großen Tropfen Blut aus der Fingerspitze. Berühren Sie den Blutstropfen mit der Spitze der Mikropipette, halten Sie die Mikropipette horizontal oder leicht nach unten geneigt, sodass das Blut automatisch in die Mikropipette und bis zur Füllmarke von 10 µl fließen kann. Drücken Sie die Mikropipette nicht zusammen!



5. Geben Sie das Blut durch Zusammendrücken des oberen Teils der Mikropipette unverzüglich in das Gefäß mit dem Verdünnungspuffer. Spülen sie die Mikropipette mehrere Male hintereinander mit dem Verdünnungspuffer, bis sich das Blut vollständig im Gefäß mit dem Puffer vermischt hat. Danach füllen Sie die Mikropipette mit dem verdünnten Blut bis zum Ansatz des Saugkörpers.



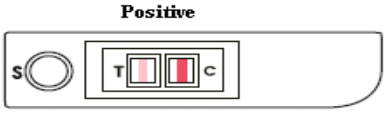
6. Geben Sie genau 3 Tropfen der verdünnten Probe auf das runde Applikationsfeld (S) der Testkasette. Vermeiden Sie Luftblasen. Starten Sie die Stoppuhr. Nach Tropfenzugabe dürfen Sie die Testkasette für einen Zeitraum von 2 Minuten nicht mehr berühren oder verschieben.



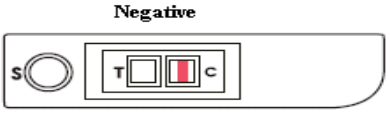
7. Das Testresultat können Sie 5 Minuten nach Zugabe der Proben-Tropfen ablesen. Bei unklarem Ergebnis warten Sie weitere 4-5 Minuten und lesen erneut ab. Beachten Sie, dass ein positives Resultat abgelesen werden kann, sobald Test- und Kontrolllinien klar zu sehen sind. In den meisten Fällen geschieht das bereits in weniger als 2 Minuten. Lesen Sie das Testergebnis nach 10 Minuten nicht mehr ab.

Interprätation der Ergebnisse

Das Testergebnis ist **positiv,** wenn eine mehr oder weniger rotgefärbte Linie im Kontrollfeld (C) erscheint und eine weitere hell- bis dunkelrote Linie im Testfeld (T) zu erkennen ist.



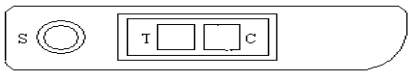
Das Testresultat ist **negativ**, wenn eine hell- bis dunkelrot gefärbte Linie im Kontrollfeld (C) erscheint und keine rote Linie im Testfeld (T) zu sehen ist. Taucht im Kontrollfeld (C) eine nur schwache Linie auf, dann ist der IgA-Titer niedrig und das negative Resultat sollte auf einem anderem Wege bestätigt werden.



Ist in keinem der beiden Felder eine Linie zu sehen, oder ist die Linie im Kontrollfeld (C) schwach ausgeprägt, so befinden sich keine IgA Antikörper in der Probe, oder aber der Titer der IgA Antikörper ist sehr niedrig. Die Inzidenz für einen geringen IgA Antikörpertiter liegt in der Normalbevölkerung bei etwa 0,5%, und bei Zöliakie-Patienten zwischen 2-3%. In diesen Fällen lässt

sich die Zöliakie nicht mit dem Biocard™ Celiac Test nachweisen.

IgA Defizienz



Positiv:
Der Test weist darauf hin, dasss sich mit der Zöliakie assozierte Antikörper gegen Gewebe-Transglutaminase IgA im Blut befinden. Entsprechend weist das Testergebnis mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine vorliegende Zöliakie-Erkrankung hin.

Negativ:
Das Ergebnis deutet darauf hin, dass sich keine mit der Zöliakie assozierten Gewebe-Transglutaminase IgG im Blut befindet. Damit kann das Vorliegen einer Zöliakie-Erkrankung praktisch ausgeschlossen werden. Bei Vorliegen gastrointestinaler Beschwerden sind dann weitere medizinische Untersuchungen angeraten.

IgA Defizienz
Der Test deutet darauf hin, dass der IgA Antikörpertiter im Blut zu gering ist oder aber es sind gar keine IgA Antikörper im Blut vorhanden. Da die Basis des Tests die Anwesenheit von IgA-Antikörpern gegen die Gewebe-Transglutaminase ist, gibt es daher keine Möglichkeit eine Zöliakie mit dem Biocard™ Celiac Test zu detektieren. In diesem Fall sollte eine gesonderte Überprüfung auf IgG Antikörper erfolgen.

Bei glutenfreier Ernährung nimmt die Menge der Anti-tTG-IgA Antikörper innerhalb weniger Wochen ab. Nach etwa 6 Monaten sind in den meisten Fällen keine dieser Antikörper mehr detektierbar. Entsprechend kann der Biocard™ Celiac Test auch zur Verlaufskontrolle einer glutenfreien Diät eingesetzt werden.

Lagerung
Lagern Sie die Testkasetten, Probenverdünnungsgefäße und das weitere Zubehör bei Raumtemperatur zwischen +10°C - +27°C. Vermeiden Sie das Einfrieren. Das Verfallsdatum ist auf den Aluminium-Beuteln der Testkasetten und der Außenschachtel vermerkt.

Sensitivität und Spezifität
Der Biocard™ Celiac Test wurde in einer Studie mit 228 klinischen Proben einer Leistungsbewertung unterzogen und die Ergebnisse mit den dazugehörigen klinisch-histologischen Befunden abgeglichen.

		Biopsy diagnosis	
		+	-
Biocard™ Celiac Test	+	117	7
	-	4	100

Der Biocard™ Celiac Test wies eine Sensitivität von 96,7 % und eine Spezifität von 93,5 % auf.

Warnungen und Einschränkungen

- Wenn der Test nicht detalliert entsprechend der Gebrauchsanweisung durchgeführt wird, kann es zu falschen Testergebnissen kommen.
- Die endgültige Diagnose einer Zöliakie sollte nach gründlicher Untersuchung und unter Einbeziehung klinischer Symptome und weiterer Laborparameter von einem Arzt gestellt werden.
- Eine glutenfreie Ernährung sollte nicht vor der Diagnose begonnen werden, da dies zu einem falsch-negativen Ergebnis führen kann.
- Verwenden Sie nur Vollblutproben, da die tTG der Erythrozyten für die einwandfreie Funktion des Tests benötigt werden.
- Die Häufigkeit des IgA Mangels bei von Zöliakie betroffenen Patienten beträgt 2-3% und bei diesen Patienten kann die Erkrankung nicht mit dem Biocard™ Celiac Test diagnostiziert werden.
- Nach Öffnung der Aluminium-Beutel sollte der Test in den folgenden 20 Minuten durchgeführt warden.
- Verwenden Sie den Test nicht nach dem Verfallsdatum.
- Verwenden Sie den Test nicht, wenn der Aluminiumbeutel beschädigt ist. Verwenden Sie kein beschädigtes Zubehör.
- Alle Testkomponenten sind nur für den hier genannten Verwendungszweck einzusetzen. Alle Komponenten inklusive der Testkasetten und sonstigem Zubehör dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Der Probenverdünnungspuffer enthält 0,09 % Natriumazid. Vermeiden Sie entsprechend die Berührung mit der Haut und vermeiden Sie das Verschlucken der Lösung!
- Verwenden und Vermischen Sie keine Reagenzien oder Testkasetten unterschiedlicher Herstellungschargen.
- Folgen Sie den grundsätzlichen Vorsichtsmaßnahmen und Laboranweisungen bei der Lagerung und Entsorgung der Proben und verwendeten Materialien.

Literatur

1. T.Raivio et al. (2006). Self Transglutaminase-based rapid celiac disease antibody detection by lateral flow method. Aliment Pharmacol Ther 24, 147-154
2. I.R. Korponay-Szabo et al. (2005). Coeliac disease case finding and diet monitoring by point of care testing Aliment Pharmacol Ther, 22, 729-737
3. G. Nemec et al. (2006). Not Looking for celiac disease: Diagnostic accuracy of two rapid commercial assays Am. J Gastroenterol, 101, 1-4
4. Vijay Kumar (2004) Immunoglobulin deficiency and celiac disease, CLI 28 (3):10-11
5. Markku Mäki et al. (2003) Prevalence of Celiac Disease among Children in Finland, N Eng J Med 2003; 348: 2517-24
6. Fraser, J. S et al. (2001) Pathogenesis of Coeliac disease : implications for treatment. World J. Gastroenterol. 7: 772-776

7. Husby, S. et al. (2012) Eur. Soc. Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. J Ped. Gastroent. Nutr. 54:136-160

Symbolerklärung:

	Hersteller
IVD	*In vitro* Diagnostikum
REF	Bestellnummer
LOT	Chargenbezeichnung
	Lagerbedingungen
STERILE R	Sterilisierung durch Bestrahlung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Nicht wiederverwenden
	Verwendbar bis
	Inhalt ausreichend für < n > tests
M-PIP	Mikropipetten
DIL SAMP	Verdünnungspuffer
CE	CE mark

MANUFACTURER:
Labsystems Diagnostics Oy
Tiilitie 3, 01720 Vantaa, FINLAND
www.labsystemsdx.com
tel. +358-20 155 7530
fax. +358-20 155 7521
support@labsystemsdx.com

Patented: EP1390753

CE