



ANTI-DEAMIDOVANÉ GLIADINOVÉ PEPTIDY IgA (DGP-IgA)



KÓD 44885	96 testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení protilátek proti deamidovaným gliadinovým peptidům IgA Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

ANTI-DEAMIDOVANÉ GLIADINOVÉ PEPTIDY IgA (DGP-IgA)

ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

PRINCIP METODY

Protilátky proti anti-deamidovaným gliadinovým peptidům IgA (DPG - IgA) ze séra se váží na antigen navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (křenovou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgG) s protilátkami navázanými na povrchu jamky. Nakonec se přidává 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB) s H₂O₂ do každé jamky jako enzymový substrát. Vzniklá enzymatická barevná reakce je zastavena kyselinou. Žluté zbarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorbance je úměrná koncentraci DPG IgA protilátek ve vzorku¹.

OBSAH A SLOŽENÍ

- A. Koncentrovaný promývací roztok.** 50 mL. Koncentrovaný fosfátový pufr, azid sodný 15 mmol/L.
- B. Ředící roztok** 100mL. Tris pufr, azid sodný 15 mmol/L,
- C+. Pozitivní kontrola.** 1,5 mL. Ready to use. Sérum s anti deamidovaným gliadinovým peptidem proti IgA protilátkám, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Lidské sérum bez anti-deamidovaných gliadinových IgA protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- D Konjugát.** 15 mL. Křenovou peroxidázou značené králičí polyklonální imunoglobuliny proti lidskému IgA.
- E. Substrát.** 15 mL. 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB).
- F. Zastavovací roztok .15 mL. Kyselina fosforečná 4,5%.**
H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
P303 + P361 + P353 – PŘI STYKU S KÚŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.
- M. Mikrotitrační destičky:** 12 modulů po 8 rozlamovatelných jamkách s navázanými deamidovanými gliadinovými peptidy.
- S1-S6. Standardy.** Každý po 1,5 mL. Ready to use. Anti-deamidované gliadinové protilátky, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace IgA protilátek jsou: 0, 6, 12, 25, 50 a 100 U/L, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrováno proti internímu referenčnímu standardu.

Pro další varování a doporučení – viz Karta bezpečnostních údajů (SDS).

Lidská séra použítá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a shledána negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potencionálně infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C.

Reagenty jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno kontaminaci v průběhu jejich užívání. Po otevření je doporučeno jejich spotřebování do 4 týdnů.

Známky zhoršení kvality:

– Kapalné komponenty: Přítomnost částic, zákal

Mikrotitrační destičky: natržené sáčky, makroskopické defekty jako je poškrábání dna jamek.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Promývací pufr: Zředte koncentrovaný promývací pufr A destilovanou vodou v poměru 1/20. Pořádně promíchejte. Roztok je stabilní 30 dnů při 2-8°C. Pro 1 strip se spotřebuje přibližně 50 ml promývacího reagentu.

Ostatní činidla jsou připravena k přímému použití - ready to use.

M44885i-04

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)

Quality System certified according to
EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards

český překlad 06/2018/VE

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- zvlhčovací komůrka
- promývací zařízení pro mikrotitrační destičky
- reader nebo fotometr s mikrokvetou a filtrem 450 ± 10 nm.

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím roztokem (B). K testování vždy používejte čerstvě naředěný vzorek.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechna činidla na pokojovou teplotu (Pozn.: 1).
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami (2) a vyjměte požadované množství pro stanovení (Poznámka 2).
3. **Postup práce:**
 - **Kvantitativní stanovení:** Pipetujte po 100 µL každého standardu (S1-S6), Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek.
 - **Kvalitativní stanovení:** Pipetujte 100 µL standardu S3, Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek. Pipetujte 100 µL ředícího roztoku (B) jako blank.
4. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 30 minut.
5. Odsajte obsah jamek a jamky promyjte 3-krát po 300 µL promývacího pufru vždy po dobu nejméně 10 sekund (Poznámka 2 a 3).
6. Pipetujte do všech jamek 100 µL konjugátu (D).
7. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
8. Promyjte jamky podle odstavce č. 5.
9. Pipetujte 100 µL substrátu (E) do všech jamek.
10. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
11. Pipetujte 100 µL zastavovacího roztoku (F) do všech jamek a inkubujte po dobu 5 minut při pokojové teplotě. (Poznámka 5)
12. Odečtěte absorbanci jednotlivých jamek při 450 nm za použití S1 standardu nebo jamky blanku pro vynulování přístroje. Zbarvení je stabilní po dobu nejméně 30 minut.

VÝPOČET

Kvantitativní stanovení: Vyneste do grafu hodnoty absorbance pro každý standard proti koncentraci DGP v U/mL. Koncentrace DGP protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka: 4-parametrická logistická).

Kvalitativní stanovení: Vypočtete absorbanci Cut-off následovně:

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3 Standard} \times 0,80$$

Vypočtete absorbanční poměr:

$$\text{Absorbanční poměr} = \frac{A_{450 \text{ nm}} \text{ Vzorku}}{A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off}}$$

Když jsou hodnoty absorbancí vyšší než je horní měřicí limit readeru, vzorky naředte reagentem (B) a stanovení opakujte.

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky, s koncentrací ≥ 10 U/mL, nebo které mají vyšší absorbanční poměr jak 1,0 jsou považovány za pozitivní.

Vzorky, s koncentrací nižší jak 10 U/mL, nebo které mají nižší absorbanční poměr jak 1,0 jsou považovány za negativní.



ANTI-DEAMIDOVANÉ GLIADINOVÉ PEPTIDY IgA (DGP-IgA)



KÓD 44885 96 testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C
Reagenty pro stanovení protilátek proti deamidovaným gliadinovým peptidům IgA Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích

ANTI-DEAMIDOVANÉ GLIADINOVÉ PEPTIDY IgA (DGP-IgA)

ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí.

KONTROLA KVALITY

Absorbance standardu (S6) by měla být vyšší než 1,300 .
Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí mezi 40 a 60 U/mL a pro Negativní kontrolu (C-) by měla být nižší jak 10U/mL .
Absorbanční poměr pro Negativní kontrolu (C-) by měl být nižší než 1,0.
Každá laboratoř by si měla stanovit svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Opakovatelnost (jednoho vzorku):

U/ml	CV%	n
13,9	4,0	20
29,0	5,3	20
74,8	6,0	20

- Reprodukovatelnost (run to run):

U/ml	CV%	n
13,9	1,7	20
29,0	1,9	20
74,8	8,7	20

- Detekční limit: 1,0 U/mL

- Rozsah měření: 1–100 U/mL. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředte vzorek ředícím pufrům (B) a zopakujte stanovení.
- Interference: Hemoglobin (1000 mg/dL), bilirubin (40 mg/dL) a triglyceridy (3000 mg/dL) neinterferují. Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat .

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Deamidovaný gliadin zvyšuje vazby protilátek proti gliadinu³. Ve srovnání s konvenčním stanovením protilátek proti gliadinu má diagnostika protilátek proti deamidovanému gliadinovému peptidu větší senzitivitu a specifitu včetně pozitivní a negativní předpovědní hodnoty⁴. Zjišťování koncentrace těchto protilátek je užitečné pro monitorování onemocnění a dodržování bezlepkové diety.
Souprava na stanovení anti gliadinových protilátek od společnosti Biosystems vykazuje diagnostickou senzitivitu pro onemocnění celiakie 70,0% a specifitu 100%.
Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKA

1. Nepoužívejte reagentie z různých šarží.
2. Skladujte nepoužité jamky v plastickém sáčku uzavřené společně s vysoušecím sáčkem.
3. Zabraňte poškození povrchu mikrotitračních destiček.
4. Promývací roztok by měl být kompletně odstraněn z jamky.
5. Zastavovací roztok (F) enzymové reakce musí být pipetován do jamky přibližně ve stejném časovém odstupu jako substrát (E) v odstavci č.9.

LITERATURA

1. Butler JE. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
3. Elke Schwartz, Franka Kahlenberg, Ulrich Sack, Thomas Richter, Martin Stern, Karsten Conrad, Klaus-Peter Zimmer and Thomas Mothes. Serologic Assay Based on Gliadin-Related Nonapeptides as a Highly Sensitive and Specific Diagnostic Aid in Celiac Disease. Clinical Chemistry 2004;50: 2370-2375.
4. Sugai E, Vázquez H, Nachman F, Moreno ML, Mazure R, Smecuol E, Niveloni S, Cabanne A, Kogan Z, Gómez JC, Mauriño E, Bai JC. Accuracy of testing for antibodies to synthetic gliadin-related peptides in celiac disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2006;4(9):1112-7.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 15.6.2018

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí. Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese: www.biosystems.es.

Český návod je k dispozici na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivaticová 421/5,150 21 Praha5,

tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava,

tel.: + 421 264 774 591

V případě mimořádných událostí:

ČR : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a LF UK,

tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

SK : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166