



ANTI-TRANSGLUTAMINÁZA – IgA PROTILÁTKY (Anti-tTG IgA)



Kód 44754	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagencie pro stanovení IgA protilátek Anti-tkáňové transglutaminázy (tTG). Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.	

ANTI-TRANSGLUTAMINÁZA – IGA PROTILÁTKY ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

PRINCIP METODY

Protilátky proti tkáňové transglutamináze (anti-tTG) ze séra se váží na antigen navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (křenovou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgA) 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 protilátek ve vzorku¹.

OBSAH A SLOŽENÍ

- A. Koncentrovaný promývací roztok.** 50 mL. Tris 2 mol/L, neiontový detergent 22 g/l, azid sodný 15 mmol/l, pH 7,4.
- B. Redičí roztok** 125 mL. Tris 0,1 mol/l, chlorid sodný 110 mmol/l, urea 2 mol/l, hovězí albumin 5 g/l, neiontový detergent 5 g/l, azid sodný 15 mmol/l, pH 7,4. Modře zbarvený roztok.
- C+. Pozitivní kontrola.** 1 mL. Ready to use. Sérum s anti-tTG IgA protilátkami, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 2 mL. Lidské sérum bez anti-tTG protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- D. Konjugát** 12 mL. Křenovou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgA. Zeleně zbarvený roztok.
- E. Substrát.** 12 mL. 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB).
- F. Zastavovací roztok.** 15 mL. Kyselina sírová 0,5 mol/L.
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 navázaným kalcem a aktivovaným gliadinem proti rekombinantní lidské tTG.
- S1-S6. Standardy** Každý po 1 mL. Ready to use. Anti-tTG lidské sérum, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace anti-tTG IgA protilátek jsou: 0, 5, 10, 25, 50 a 100 U/ml, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrováno proti internímu referenčnímu standardu.

Lidská séra použitá 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 potenciálně infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C.
Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno kontaminaci v průběhu jejich užívání.

Známky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Mikrotitrační destičky: natržení sáčku, makroskopické defekty jako je poškrábání dna jamek.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Promývací pufr: Zředte koncentrovaný promývací pufr (A) destilovanou vodou v poměru 1/20. Pořádně promíchejte. Pro 1 strip se spotřebuje přibližně 50 ml promývací reagentie. Roztok je stabilní 7 dnů při 2-8°C. Ostatní činidla jsou ready to use.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

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

VZORKY

Sérum nebo plasma odebraná standardním způsobem. Stabilita 1 týden při 2-8°C.
Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufr (B).

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechny činidla na pokojovou teplotu. (Pozn.1).
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami a vyjměte požadované množství pro stanovení (Pozn. 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 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 obsahy jamek a promyjte je 3-krát po 300 µl promývacího pufru vždy po dobu nejméně 10 sekund (Poznámka 3 a 4).
6. Pipetujte do všech jamek 100 µl konjugátu (D).
7. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 30 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. 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 absorbanční hodnoty pro každý standard proti koncentraci anti-tTG protilátek (U/mL). Koncentrace anti-tTG protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka : 4-parametrická logistická, cubic spline, jednostranná hyperbola).

Kvalitativní stanovení: Vypočtete absorbanci Cut-off následovně:

$$A450 \text{ nm Cut-off} = A450 \text{ nm Pozitivní kontrola} \times 0,29$$

Vypočtete absorbanční poměr:

$$\text{Absorb. poměr} = \frac{A450 \text{ nm Vzorku}}{A450 \text{ nm Cut-off}}$$

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



ANTI-TRANSGLUTAMINÁZA – IgA PROTILÁTKY (Anti-tTG IgA)



Kód 44754	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagencie pro stanovení IgA protilátek Anti-tkáňové transglutaminázy (tTG). Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.	

ANTI-TRANSGLUTAMINÁZA – IGA PROTILÁTKY ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky, s koncentrací větší jak 12 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,2 jsou považovány za pozitivní. Vzorky, s koncentrací nižší jak 8 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 0,8 jsou považovány za negativní. Vzorky, s koncentrací mezi 8 až 12 U/mL nebo které mají absorbanční poměr mezi 0,8 až 1,2 jsou považovány za nejasné a doporučuje se opakování analýzy, stejně tak jako provedení dalších testů pro stanovení diferenciální diagnózy. Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí.

KONTROLA KVALITY

Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí mezi 30 a 70 U/mL, a pro Negativní kontrolu (C-) by měla být nižší jak 8 U/mL. Absorbanční poměr pro Negativní kontrolu (C-) by měl být nižší než 0,8.

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):

Koncentrace (střední)	CV	n
10,1 U/mL	7,8 %	25
36,1 U/mL	6,9 %	25

- Reprodukovatelnost (run to run):

Koncentrace (střední)	CV	n
10,1 U/mL	10,3 %	25
36,1 U/mL	10,0 %	25

- Detekční limit: 1,7 U/mL

- Správnost: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s referenčními činidly. Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.

- Interference: Hemoglobin do 1000 mg/dl, bilirubin do 40 mg/dl, triglyceridy do 3000 mg/dl a revmatoidní faktor do 300 IU/ml neinterferují. Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat².

- Rozsah měření: 1,7–100 U/mL. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředit vzorek ředícím pufrem (B) a opakujte stanovení.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Tkáňová transglutaminasa (tTG) je hlavním autoantigenem u celiakie³. Anti-tTG isotypu IgA jsou přítomny u pacientů s celiakií nebo s dermatitis herpetiformis⁴.

Specifita anti-tTG Elisa stanovení pro celiakii je 94–100% a citlivost je 92–100%⁵. V případě dermatitis herpetiformis je specifita 98% a citlivost 89%⁴.

Pokud je zjištěna nedostatečně vysoká (nebo žádná) hladina IgA protilátek u pacientů s celiakií⁶, doporučuje se stanovit anti-tTG IgG protilátky.

Senzitivita anti-tTG pro Elisa soupravu BioSystems byla ve třídě IgA stanovena na 95,0% a specifita 99,4% ve studii s 227 klinickými vzorky. Detaily studie jsou k dispozici na vyžádání.

Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKA

1. Nezaměňujte jednotlivé reagencie z různých kitů.

2. Skladujte nepoužité jamky v plastickém sáčku a uzavřete je společně s vysoušecím sáčkem. Doba skladování by neměla přesáhnout 12 měsíců.
3. Nepoškodte vnitřní povrch mikrotitračních destiček.
4. Promývací roztok by měl být kompletně odstraněn z jamek.
5. Zastavovací roztok (F) enzymové reakce musí být pipetován do jamek přibližně ve stejném časovém odstupu jako substrát (E) v odstavci č.9.

LITERATURA

1. Butler JE. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AAC Press, 2000
3. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Shuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature Medicine 1997; 3(7):797-801
4. Dieterich W, Laag E, Bruckner-Tuderman L, Reunala T, Karpati S, Zagoni T, Riecken EO, Schuppan D. Antibodies to tissue transglutaminase as serologic markers in patients with dermatitis herpetiformis. J Invest Dermatol 1999; 113:133-136
5. Collin P. New diagnostic findings in coeliac disease. Ann Med 1999; 31:399-405
6. Cataldo F. et al. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. Gut 1998; 42:362-365

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 17.8.2016.

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., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha 5,

tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31, Stupava

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