



ANTI – DEAMINOVANÝ GLIADIN – IgG PROTILÁTKY (DGP- IgG)



Kód 44884	96 testov	ANTI – DEAMINOVANÝ GLIADIN IgG protilátky (DGP IgG) ELISA Mikrotitračné doštičky
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagencie pre stanovenie IgG protilátok proti deaminovanému gliadinu. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.		

PRINCÍP METÓDY

Protilátky zo séra reagujú s deaminovanými gliadinovými peptidmi viazanými na antigén, ktorý je imobilizovaný na povrchu mikrotitračných doštičiek.

V priebehu druhej inkubácie sa viaže konjugát (polyklonálne králičie imunoglobulíny proti ľudskému IgG značené chrenovou peroxidázou) s protilátkami na povrchu jamky. Nakoniec sa pridá do každej jamky 3.3',5.5' – tetrametylbenzidín (TMB) s H₂O₂ ako enzymový substrát. Dochádza k enzymatickej farebnej reakcii, ktorá je zastavená kyselinou. Absorbancia vzniknutého žltého komplexu sa meria pri 450 nm, pričom hodnota absorbancie je úmerná koncentrácii protilátok vo vzorke.¹

OBSAH A ZLOŽENIE

- A. Koncentrovaný premývací roztok.** 50 ml. Koncentrovaný fosfátový pufer, azid sodný 15mmol/l.
- B. Riediaci roztok.** 100ml. Tris, azid sodný 15mmol/l.
- C+. Pozitívna kontrola.** 1,5ml. Pripravené k priamemu použitiu. Sérum s anti-DGP IgG protilátkami, azid sodný 15mmol/l.
- C-. Negatívna kontrola.** 1,5ml. Pripravené k priamemu použitiu ľudské sérum bez anti -DGP IgG protilátok, azid sodný 15mmol/l.
- D. Konjugát.** 12ml. Polyklonálne králičie imunoglobulíny proti ľudskému IgG značené chrenovou peroxidázou.
- E. Substrát.** 12ml. 3.3',5.5' – tetrametylbenzidín (TMB)
- F. Zastavovací roztok.** 15ml. Kyselina fosforečná 4,5%
Výstraha :
 H314 – Spôsobuje ťažké poleptanie kože a poškodenie očí.
Upozornenie :
 P280 – Používajte ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/štit na tvár
 P303 + P361+ P353 - Pri styku s kožou (alebo vlasami) :
 Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte.
 Kožu opláchnite vodou/osprchujte.
- M. Mikrotitračné doštičky.** 12 modulov po 8 odlamovateľných jamkách s naviazaným deaminovaným gliadinom
- S1 – S6. Štandardy.** Každý po 1,5 ml. Pripravené k priamemu použitiu. Sérum s anti -DGP IgG protilátkami, azid sodný 15mmol/l. Koncentrácie anti -DGP IgG protilátok sú 0, 6, 12, 25, 50 a 100 U/ml a sú uvedené na štítku fľaštičky.
 Kalibrované proti internému referenčnému štandardu.

Ďalšie varovania a upozornenia – viď bezpečnostný list.
 Ľudské séra použité pri príprave pozitívnej a negatívnej kontroly boli testované s negatívnym výsledkom na anti-HIV a anti-HCV a rovnako na HBs antigen. I napriek tomu zaobchádzajte s kontrolami ako s potencionálne infekčným materiálom.

SKLADOVANIE

Skladujte pri 2 – 8°C.
 Reagencie sú stabilné do dátumu uvedeného na štítku v prípade, že sú skladované uzatvorené a je zabránené kontaminácii v priebehu ich používania. Po otvorení sa odporúča spotrebovať do 4 týždňov.

Príznačky zhoršenia kvality :

- Kvapalné reagencie : Prítomnosť zrazeniny, zákalu.
- Mikrotitračné doštičky : natrhnutie sáčku, makroskopické defekty, ako je poškrabanie dna jamiek.

PRÍPRAVA REAGENCIÍ

Premývací pufer : Zriedte koncentrovaný premývací pufer (A) destilovanou vodou v pomere 1/20. Riadne premiešajte. Pre 1 strip sa spotrebuje približne 50 ml premývacieho roztoku. Roztok je stabilný 30 dní pri 2 – 8°C.
 Ostatné činidlá sú pripravené k priamemu použitiu.

PRÍDAVNÉ ZARIADENIA

- zvlhčovacia komôrka
- premývacie zariadenie pre mikrotitračné doštičky
- reader mikrotitračných doštičiek alebo fotometer s mikrokyvetou a filtrom 450 ±10nm.

VZORKY

Sérum alebo plazma odobraná štandardným spôsobom.
 Vzorku pred testovaním zriedte v pomere 1/100 riediacim puferom (B). Pre analýzu použite vždy čerstvo nariadenú vzorku.

POSTUP

1. Vytemperujte všetky činidlá a jamky na izbovú teplotu. (Poznámka 1)
2. Otvorte balíček s mikrotitračnými doštičkami a vyberte množstvo potrebné pre stanovenie. (Poznámka 2).
3. **Postup práce :**
 - **Kvantitatívne stanovenie :** Pipetujte po 100µl každého štandardu (S1-S6), pozitívnej kontroly (C+), negatívnej kontroly (C-) a zriedenej vzorky do jednotlivých (odlišných) jamiek.
 - **Kvalitatívne stanovenie :** Pipetujte po 100 µl pozitívnej kontroly (C+), negatívnej kontroly (C-) a zriedenej vzorky do jednotlivých (odlišných) jamiek. Ako blank použite 100µl riediaceho roztoku (B) a napipetujte ho do jednej jamky.
4. Stripy umiestnite do zvlhčovacej komôrky a inkubujte ich 30 minút pri izbovej teplote.
5. Odsajte obsah jamiek a premyte ich premývacím puferom 3x po 300 µl . Doba premývania – minimálne 10 sekúnd. (Poznámka 3 a 4).
6. Do všetkých jamiek pipetujte 100µl konjugátu (D).
7. Stripy umiestnite do zvlhčovacej komôrky a inkubujte ich 15 minút pri izbovej teplote.
8. Jamky premyte podľa bodu 5.
9. Do všetkých jamiek pipetujte 100µl substrátu (E).
10. Stripy umiestnite do zvlhčovacej komôrky a inkubujte ich 15 minút pri izbovej teplote.
11. Do všetkých jamiek pipetujte 100µl zastavovacieho roztoku (F) a inkubujte 5 minút pri izbovej teplote.(Poznámka 5).
12. Odčítajte hodnotu absorbancie jednotlivých jamiek pri 450 nm pri použití štandardu S1 , alebo jamky s blankom pre vynulovanie prístroja. Farba je stabilná najmenej 30minút.



ANTI – DEAMINOVANÝ GLIADIN – IgG PROTILÁTKY (DGP- IgG)



Kód 44884	96 testov	ANTI – DEAMINOVANÝ GLIADIN IgG protilátky (DGP IgG) ELISA Mikrotitračné doštičky
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagencie pre stanovenie IgG protilátok proti deaminovanému gliadinu. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.		

VÝPOČET

- **Kvantitatívne stanovenie** : Na kalibračnú krivku vyznačte hodnoty absorbančie každého štandardu oproti koncentrácií anti-DGP-IgG protilátok (U/ml). Koncentrácia anti-DGP-IgG protilátok prítomných vo vzorke sa vypočíta interpoláciou absorbančie na kalibračnej krivke (odporúča sa použiť 4-parametrickú, logistickú).
- **Kvalitatívne stanovenie** : absorbanciu cut-off vypočítajte nasledovne :

$$A_{450nm} \text{ Cut-off} = A_{450nm} \text{ S3 štandard} \times 0,8$$

Vypočítajte absorbančný pomer :

$$\text{absorbančný pomer} = \frac{A_{\text{vzorky}} 450nm}{A_{\text{cut-off}} 450nm}$$

Ak sú hodnoty absorbančie vyššie ako horný limit merania readeru , nariedte vzorky reagenciou (B) a stanovenie opakujte.

REFERENČNÉ HODNOTY

Za pozitívne sú považované vzorky s koncentráciou ≥ 10 U/ml, alebo ak je ich absorbančný pomer vyšší ako 1,0.
Za negatívne sú považované vzorky s koncentráciou < 10 U/ml, alebo ak je ich absorbančný pomer nižší ako 1,0.
Uvedené hodnoty sú orientačné, preto by si malo každé laboratórium stanoviť svoje vlastné rozmedzia.

KONTROLA KVALITY

Absorbancia štandardu S6 by mala byť vyššia ako 1,3.
Koncentrácia pozitívnej kontroly (C+) by mala byť v rozmedzí medzi 40 až 60 U/ml.
Koncentrácia negatívnej kontroly (C-) by mala byť nižšia ako 10 U/ml.
Absorbančný pomer pre negatívnu kontrolu (C-) by mal byť nižší ako 1,0.
Každé laboratórium by si malo stanoviť svoju vlastnú vnútornú kontrolu kvality a postupy pre nápravu pre prípad, že kontroly nie sú v tolerančnom rozpätí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- opakovateľnosť (jednej vzorky) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
17,2U/ml	5,8%	20
37,0 U/ml	4,3%	20
80,3 U/ml	4,6%	20

- reprodukovateľnosť (run to run) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
17,2U/ml	4,1%	20
37,0 U/ml	2,5%	20
80,3 U/ml	2,7%	20

- detekčný limit : 1,0 U/ml
- správnosť : výsledky získané touto súpravou pri porovnaní s referenčnými činidlami nevykazovali systematické rozdiely. Podrobnosti o porovnávačej skúške sú k dispozícii na vyžiadanie .
- interferencie : hemoglobín do 1000mg/dl, bilirubín do 40mg/dl a triglyceridy do 3000mg/dl neinterferujú. Niektoré druhy liekov a ďalších látok môžu interferovať. ²
Rozsah merania : 1,0 – 100 U/ml. Ak získate výsledky s vyššou hodnotou, zriedte vzorku riediacim puľrom (B) a stanovenie opakujte.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Deaminácia gliadinu zvyšuje schopnosť väzby anti gliadinových protilátok ku gliadinu. ³V porovnaní s konvenčným stanovením anti gliadinových protilátok, deaminované peptidy anti gliadinových protilátok majú vyššiu špecifickosť, senzitivitu a pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty. ⁴ Priebežné zmeny koncentrácie týchto protilátok je užitočné sledovať pri kontrole dodržiavania bezlepkovej diéty. Tento Elisa test od Biosystems vykazuje pri ochorení na celiakiu diagnostickú senzitivitu 92,5% a špecifickosť 100%.

Klinická diagnóza by nemala byť stanovená len na základe výsledku jediného testu, je potrebné zhodnotiť klinické i ďalšie laboratórne údaje.

POZNÁMKY

1. Nezamieňajte jednotlivé reagencie z rôznych súprav.
2. Nepoužitú jamky skladujte v plastikovom sáčku s exsikatorom.
3. Nepoškodte vnútorný povrch mikrotitračných doštičiek.
4. Premývací roztok z jamiek by mal byť celkom odstránený.
5. Zastavovací roztok enzýmovej reakcie(F) musí byť pipetovaný do jamiek približne v rovnakom časovom odstupe ako substrát (E) v bode 9 Postupu práce.

LITERATÚRA

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.



ANTI – DEAMINOVANÝ GLIADIN – IgG PROTILÁTKY (DGP- IgG)



Kód 44884	96 testov	ANTI – DEAMINOVANÝ GLIADIN IgG protilátky (DGP IgG) ELISA Mikrotitračné doštičky
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagencie pre stanovenie IgG protilátok proti deaminovanému gliadinu. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.		

- Elke Schwertz, 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.
- 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.

UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 18.6.2018.

Vzhľadom k možnej inovácii výrobku sa odporúča prekontrolovať slovenský preklad s originálnym príbalovým letákom tak, že sa porovnajú identifikačné čísla uvedené v zápätí. Originálny návod nájdete v súprave a na internetovej adrese www.biosystems.es.

Slovenský návod je k dispozícii na www.jktrading.cz.

Výhradný distribútor:

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 prípade mimoriadnych udalostí:

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