



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



| | | |
|--|-----------|--|
| Kód 44754 | 96 testov | ANTI – TRANSGLUTAMINÁZA IgA protilátky ELISA Mikrotitračné doštičky |
| Skladovanie pri 2 - 8°C | | |
| Reagencie na stanovenie IgA protilátok proti tkanivovej transglutamináze (tTG). Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku | | |

PRINCÍP METÓDY

Protilátky proti tkanivovej transglutamináze (anti – tTG) zo séra sa viažu na antigén naviazaný na povrchu mikrotitračných doštičiek. V priebehu druhej inkubácie sa viaže konjugát (imunoglobulín proti ľudskému IgA 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 450nm, pričom hodnota absorbancie je úmerná koncentrácii protilátok vo vzorke.

OBSAH A ZLOŽENIE

- A. Koncentrovaný premývací roztok.** 50 ml. Tris 2mol/l, neiónový detergent, 22g/l, azid sodný 15mmol/l, pH 7,4.
- B. Riediaci roztok.** 100ml. Tris 0,1mol/l, chlorid sodný 110mmol/l, urea 2mol/l, hovädzí albumín 5g/l, neiónový detergent 5g/l, azid sodný 15mmol/l, pH7,4.
Farba roztoku : modrá.
- C+. Pozitívna kontrola.** 1ml. Pripravené k priamemu použitiu. Sérum s anti tTG IgA protilátkami, azid sodný 15mmol/l.
- C-. Negatívna kontrola.** 2ml. Ľudské sérum bez anti -tTG IgA protilátok, azid sodný 15mmol/l.
- D. Konjugát.** 12ml. Imunoglobulín proti ľudskému IgA značené chrenovou peroxidázou. Zelený roztok.
- E. Substrát.** 12ml. 3.3',5.5' – tetrametylbenzidín (TMB)
- F. Zastavovací roztok.** 15ml. Kyselina sírová 0,5mmol/l.
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 vápnikom a aktivovaným gliadinom proti rekombinantnej ľudskej tTG.
- S1 – S6. Štandardy.** Každý po 1 ml. Pripravené k priamemu použitiu. Sérum s anti -tTG IgA protilátkami, azid sodný 15mmol/l. Koncentrácie anti -tTG IgA protilátok sú 0, 5, 10, 25, 50 a 100 U/ml a sú uvedené na štítku fľaštičky.
Kalibrované proti internému referenčnému štandardu.

Pre ďalšie výstrahy 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 potencióálne 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.

Príznyky zhoršenia kvality :

- Kvapalná 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 reagentu. Roztok je stabilný 7 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. Stabilita – 1 týždeň pri 2 – 8°C.
Vzorku pred testovaním zriedte v pomere 1/100 riediacim puferom (B).

POSTUP

1. Vyteperujte všetky činidlá 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).
4. Stripy umiestnite do zvlhčovacej komôrky a inkubujte ich 30 minút pri izbovej teplote.
5. Odsajte obsahy 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 30 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). (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 – TRANSGLUTAMINÁZA – IgA PROTIĽÁTKY (Anti -tTG IgA)



| | | |
|--|-----------|--|
| Kód 44754 | 96 testov | ANTI – TRANSGLUTAMINÁZA IgA protilátky ELISA Mikrotitračné doštičky |
| Skladovanie pri 2 - 8°C | | |
| Reagencie na stanovenie IgA protilátok proti tkanivovej transglutamináze (tTG). Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku | | |

VÝPOČET

- **Kvantitatívne stanovenie** : Na kalibračnú krivku vyznačte hodnoty absorbančie každého štandardu oproti koncentracii anti-tTG protilátok (U/ml). Koncentrácia anti-tTG protilátok prítomných vo vzorke sa vypočíta interpoláciou absorbančie na kalibračnej krivke (odporúča sa použiť 4-parametrickú, logistickú, kubickú spline, jednostrannú hyperbolu).
- **Kvalitatívne stanovenie** : absorbančiu cut-off vypočítajte nasledovne :

$$A_{450nm} \text{ Cut-off} = A_{450nm} \text{ Pozitívna kontrola} \times 0,29$$

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 , nariadte vzorky reagentom (B) a stanovenie opakujte.

REFERENČNÉ HODNOTY

Za pozitívne sú považované vzorky s koncentráciou vyššou ako 12 U/ml, alebo ak je ich absorbančný pomer vyšší ako 1,2. Za negatívne sú považované vzorky s koncentráciou nižšou ako 8 U/ml, alebo ak je ich absorbančný pomer nižší ako 0,8. Ak je koncentrácia v rozmedzí 8 – 12 U/ml, alebo absorbančný pomer je v rozmedzí 0,8 – 1,2 , výsledok stanovenia sa považuje za nejasný a odporúča sa opakovanie analýzy a zváženie ďalších testov pre diferenciálnu diagnostiku. Uvedené hodnoty sú orientačné, preto by si malo každé laboratórium stanoviť svoje vlastné rozmedzia.

KONTROLA KVALITY

Absorbancia blanku by mala byť nižšia ako 0,4.
Koncentrácia pozitívnej kontroly (C+) by mala byť v rozmedzí medzi 30 až 70 U/ml.
Koncentrácia negatívnej kontroly (C-) by mala byť nižšia ako 8 U/ml.
Absorbančný pomer pre negatívnu kontrolu (C-) by mal byť nižší ako 0,8.
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 |
|------------------------|------|----|
| 10,1 U/ml | 7,8% | 25 |
| 36,1 U/ml | 6,9% | 25 |

- reprodukovateľnosť (run to run) :

| Priemerná koncentrácia | CV | n |
|------------------------|-------|----|
| 10,1 U/ml | 10,3% | 25 |
| 36,1 U/ml | 10,0% | 25 |

- detekčný limit : 1,7 U/ml
- správnosť : výsledky získané touto súpravou pri porovnaní s referenčnými činidlami nevykazovali systematické rozdiely. Podrobnosti o porovnávacej skúške sú k dispozícii na vyžiadanie .
- interferencie : hemoglobín do 1000mg/dl, bilirubín do 40mg/dl, triglyceridy do 3000mg/dl a RF do 300 IU/ml neinterferujú. Niektoré druhy liekov a ďalších látok môžu interferovať.
Rozsah merania : 1,7 – 100 U/ml. Ak získate výsledky s vyššou hodnotou, zriedte vzorku riediacim pufrum (B) a stanovenie opakujte.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Tkanivová transglutamináza (tTG) je hlavným autoantigénom pri ochorení na celiakiu. ³ Anti – tTG izotypu IgA sú prítomné u pacientov s celiakiou alebo s dermatitis hepertiformis. ⁴ Špecifita anti-tTG Elisa stanovení pre celiakiu je 94 -100% a senzitivita je 92 – 100%. ⁵ V prípade dermatitis hepertiformis je špecifita 98% a senzitivita 89%.⁴ V prípade, že je u pacientov s celiakiou zistená nízka (alebo žiadna) hladina IgA protilátok, odporúča sa stanoviť anti – tTG IgG protilátky. Senzitivita anti-tTG pre súpravu od BioSystems bola pre izotyp IgA stanovená na 95% a špecifita na 99,4%. Na stanovenie bolo použitých 227 klinických vzoriek. Detaily štúdie sú k dispozícii na vyžiadanie. 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. Nepoužité jamky skladujte v plastikovom sáčku s exsikátorom.
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.



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



| | |
|--|--|
| Kód 44754 96 testov | ANTI – TRANSGLUTAMINÁZA IgA protilátky ELISA Mikrotitračné doštičky |
| Skladovanie pri 2 - 8°C | |
| Reagencie na stanovenie IgA protilátok proti tkanivovej transglutamináze (tTG). Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku | |

LITERATÚRA

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. AACC 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

UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 3.9.2019
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., 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 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

VÝROBCA

BioSystems S.A. Costa Brava 30, Barcelona (Spain)
ISO 13485 - TÜV Rheinland - Reg.: SX 60010383 0001