



ANTI-DEAMIDOVANÉ GLIADINOVÉ PEPTIDY IgA (DGP-IgA)



KÓD 44885 96 testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C
Reagencie 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 ve vzorku reagující proti deamidovaným gliadinovým peptidům IgA (DGP – IgA) se vážou 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 zabarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorbance je úměrná koncentraci DGP 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. Připravena k použití. 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 %.
- NEBEZPEČÍ: H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P303+P361+P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (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. Připraveny k použití. 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.

Další varování a bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu produktu (SDS).

Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledována 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. Po otevření je doporučeno jejich spotřebování do 4 týdnů.

Známky zhoršení kvality:

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

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.

DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

- 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 (Poznámka 1).
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami (M) 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 promýjte 3krát 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. Promýjte 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: 4parametrická logistická).

Kvalitativní stanovení: Vypočtěte absorbanci Cut-off následovně:

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

Vypočtěte 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.



ANTI-DEAMIDOVANÉ GLIADINOVÉ PEPTIDY IgA (DGP-IgA)



KÓD 44885 96 testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C
Reagencie 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

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.

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 10 U/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 rozmezí.

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 interferovat².

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Deamidace gliadinu zvyšuje vazbu anti-gliadinových protilátek na gliadin³. Ve srovnání s konvenčním stanovením anti – gliadinu mají protilátky proti deamidovaným gliadinovým peptidům vyšší senzitivitu, specifitu a pozitivní a negativní prediktivní hodnoty⁴. Vývoj koncentrace těchto protilátek je také užitečný pro sledování 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.

POZNÁMKY

- Nepoužívejte reagencie z různých šarží.
- Skládujte nepoužité jamky v plastickém sáčku uzavřeném společně s vysoušecím sáčkem.

- Zabraňte poškození povrchu mikrotitračních destiček.
- Promývací roztok by měl být kompletně odstraněn z jamek.
- Zastavovací roztok (F) enzymové reakce musí být pipetován do jamek přibližně ve stejném časovém odstupu jako substrát (E) v odstavci č.9.

LITERATURA

- Butler JE. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- 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.
- 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: 17.4. 2025

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.

Originální návod, LOT certifikát a bezpečnostní listy jsou k dispozici na internetové adrese: <https://einfo.bio> a na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR: JK-Trading spol.s.r.o., Křivaticová 421/5, 150 21 Praha 5,
tel.: +420 257 220 760, paha@jktrading.cz

SK: JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31 Stupava,
tel.: + 421 264 774 591, jk-trading@jk-trading.sk

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