



BIOGEMA

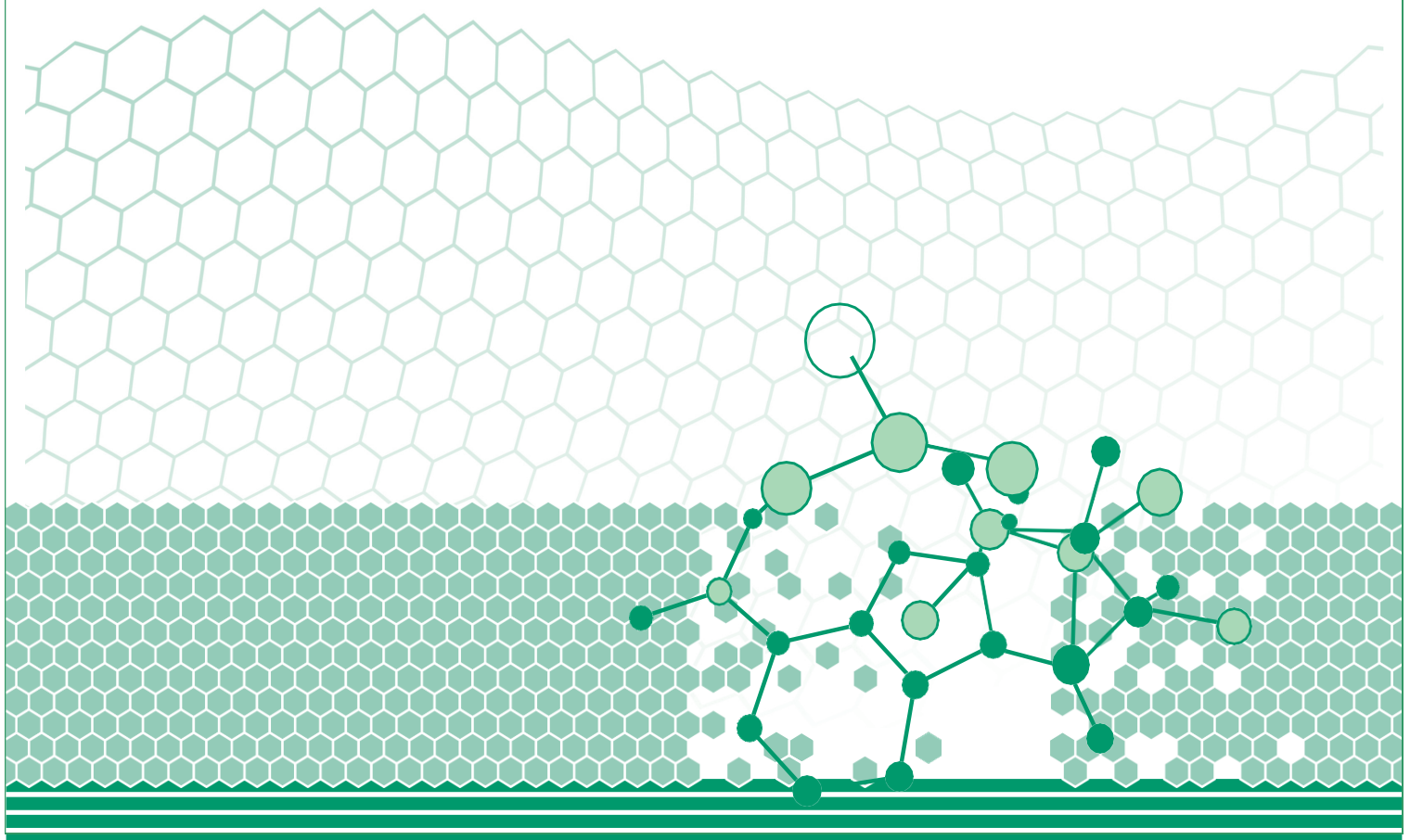
Garbiarska 2, 04001 KOŠICE

Návod na použitie

ELISA-anti-LAKTÓZA-II-A

REF E-470

96 jamiek



Súprava ELISA-anti-LAKTÓZA-II-A je určená na stanovenie špecifických protilátok triedy IgA proti mliečnemu cukru - laktóze v ľudskom sére. Umožňuje stanovenie 45 neznámych vzoriek v duplikátoch.

Kravske mlieko patrí do skupiny potenciálnych potravinových alergénov, ktoré vyvolávajú u precitlivených jedincov chorobné stavy charakterizované abnormálnou imunitnou odpoveďou ľudského organizmu na tieto látky. Jednou z príčin neznášanlivosti na mlieko je intolerancia laktózy. Intolerancia laktózy – mliečného cukru, je prisudzovaná deficitu laktázy – enzýmu, ktorý umožňuje resorbovať tento cukor. Existujú tri typy deficitu laktázy: **vrodený deficit laktázy** – príznaky intolerancie sa objavia skoro po narodení; **sekundárne znížená aktivita laktázy** - pri niektorých črevných ochoreniach; **primárne znížená aktivita laktázy** - ochorenie sa objavuje v dospelosti u jedincov, u ktorých nebola v mladosti nájdená neznášanlivosť laktózy. K poklesu laktázovej aktivity u citlivých ľudí dochádza pravdepodobne v dôsledku zníženej expresie génu.

PRINCÍP

Stanovenie je založené na princípe nepriamej ELISA metódy na detekciu špecifických protilátok. Antigén je imobilizovaný na povrchu jamiek mikrotitračnej doštičky. Testované vzorky nariadeného ľudského séra sa inkubujú v jamkách mikrotitračnej doštičky. V tejto fáze dochádza k naviazaniu špecifických protilátok z ľudského séra na imobilizovaný antigén. Po inkubácii sa premytím odstráni nezreagované komponenty ľudského séra a pridá sa konjugát chrovej peroxidázy s protilátkou proti ľudskému imunoglobulínu IgA. Po inkubácii a odstránení prebytočného konjugátu sa pridá chromogénny substrát a enzýmová reakcia sa zastaví pridaním kyseliny sírovej. Absorbancia testovaných vzoriek sa porovnáva s absorbanciou kontrolnej vzorky cut off. Intenzita sfarbenia je úmerná množstvu špecifických protilátok prítomných v sére.

ZLOŽENIE

Nezamieňať substancie z iných súprav!

1. Mikrotitračná doštička

12 ks 8-jamkových lámateľných stripov potiahnutých antigénom.

2. Kontrolné vzorky

3 fľaštičky - 1 fľaštička (1 ml) s kontrolnou vzorkou negatívnou, 1 fľaštička (1 ml) s kontrolnou vzorkou cut off (hraničnou) a 1 fľaštička (1 ml) s kontrolnou vzorkou pozitívnou, sú vyriedené v zriedovacom roztoku, pripravené na použitie. Absorbancie kontrolných vzoriek sú uvedené v Osvedčení o súprave.

3. Konjugát HRP-anti-IgA

1 fľaštička (12 ml) s konjugátom HRP-anti-IgA. Je pripravený na použitie.

4. Substrát TMB

1 fľaštička (8 ml) s TMB (3,3',5,5'-tetrametylbenzidín). Je pripravený na použitie.

5. Zriedovacie roztok

2 fľaštičky (2 x 50 ml) s TRIS-HCl tlmivým roztokom s obsahom 0,02% timerosalu a ružového farbiva, pH 7,0 ± 0,2. Je pripravený na použitie.

6. Vymývací roztok

1 fľaštička (50 ml). Obsah fľaštičky s vymývacím roztokom doplňte do 1000 ml destilovanou vodou.

7. Kyselina sírová

1 fľaštička (8 ml) s roztokom 0,5 mol.l⁻¹ kyseliny sírovej. Je pripravený na použitie.

PRÍPRAVA VZORIEK

Súprava je určená na stanovenie vzoriek krvného séra. Čerstvé vzorky sa v priebehu stanovenia uskladňujú do 72 hodín pri 2-8 °C. Vzorky séra sa dlhodobo uskladňujú pri -20°C. Tieto po rozmrazení viackrát nezamrazujte. Na stanovenie nepoužívajte lipemické, hemolyzované alebo kontaminované krvné séra. Pacientske séra sa riedia 1:101, t.j. 10 µl séra sa zriedi prídavkom 1 ml zriedovacieho roztoku.

DOPORUČENIE PRE PRÁCU SO SÚPRAVOU

- Všetky reagenty musia byť pred začiatkom stanovenia vytemperované na laboratórnu teplotu.
- Všetky inkubácie sa robia pri laboratórnej teplote 18 - 25°C.
- Odporúčame, aby sa kontrolné vzorky a pacientske séra spracovali v duplikátoch.
- Pracujte s presnými pipetami.
- Zabráňte mechanickému poškodeniu stripov.
- Nepoužitú stripy uchovávajte v obale spolu s vysušovadlom.
- Po ukončení premývania je dôležité dôkladne odstrániť vymývací roztok zo stripov.

PRACOVNÝ POSTUP

1. Pipetujte do jamiek stripov:

- po 100 µl negatívnej kontrolnej vzorky do radu A
- po 100 µl cut off vzorky do radu B
- po 100 µl pozitívnej kontrolnej vzorky do radu C
- po 100 µl pacientskych zriedených vzoriek do nasledujúcich radov.

2. Inkubujte 30 minút pri laboratórnej teplote.

3. Po ukončení inkubácie stripy 4x premyte vymývacím roztokom, pripraveným podľa návodu.

Poznámka: Pokiaľ nie je k dispozícii špeciálna premyvačka pre mikrotitračné doštičky, premyvanie spočíva v napipetovaní cca. 250 µl vymývacieho roztoku do všetkých použitých jamiek. Po 30 sekundách sa vymývací roztok zo stripov prudko vyleje. Postup sa opakuje ešte 3x.

4. Po ukončení premývania mikrotitračnú doštičku otočte hore dnom a okraje osušte filtračným papierom.

5. Do jamiek napipetujte po 100 µl konjugátu HRP-anti-IgA a inkubujte pri laboratórnej teplote 30 minút.
6. Stripy znova 4x premyte vymývacím roztokom a osušte podľa bodu 4.
7. Do jamiek napipetujte bez prerušenia po 50 µl substrátu TMB. Pipetovanie musí byť ukončené do 2 minút!
8. Vyfarbuje sa 15 min v tme.
9. Reakcia sa zastaví pridaním 50 µl kyseliny sírovej do každej jamky.
10. Intenzitu sfarbenia merajte na fotometrickom čítači mikrotitračných doštičiek pri vlnovej dĺžke 450 nm. Ako referenčný filter môže byť použitý filter s vlnovou dĺžkou od 600 – 690 nm. Meranie ukončíte najneskôr do 1 hod po skončení vyvíjania. Doštičku medzitým uschovajte v tme.

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

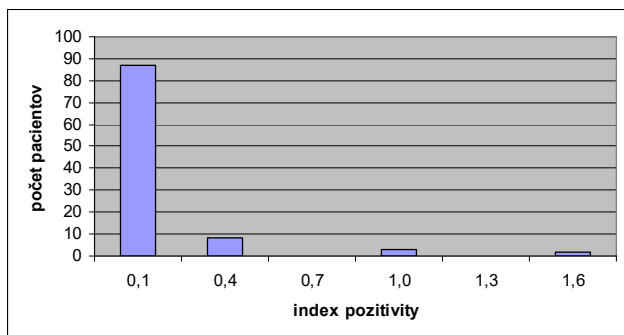
- Vypočítajte priemerné absorbancie pre všetky kontrolné vzorky a patientske séra
- Vypočítajte index pozitivity podľa vzorca:

$$IP = \frac{\bar{A}_{vzorky}}{\bar{A}_{cut\ off}}$$

IP = index pozitivity

\bar{A} = priemerná absorbancia

OČAKÁVANÉ HODNOTY



Tieto hodnoty boli získané spracovaním 100 sér zdravých jedincov. Hodnoty by mali byť považované len za orientačné. Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastné rozpätie normálnych hodnôt na základe klinicky charakterizovaných vzoriek.

- Odporúčame hodnotenie pomocou vypočítaných indexov pozitivity:

Index pozitivity negatívnych hodnôt < 1

Index pozitivity hraničných hodnôt 1 – 1,3

Index pozitivity pre pozitívne hodnoty > 1,3

KONTROLA KVALITY STANOVENIA

- Absorbancia negatívnej kontrolnej vzorky by mala byť menej ako 0,5.
- Absorbancia cut off kontrolnej vzorky by mala minimálne 2x hodnotu absorbancie negatívnej kontrolnej vzorky.

- Absorbancia pozitívnej kontrolnej vzorky by mala dosahovať minimálne 1,5x hodnotu absorbancie kontrolnej vzorky cut off.
- Hodnoty stanovené pri výstupnej kontrole súpravy sú uvedené v Osvedčení o súprave.

Opakovateľnosť

| INTRA-ASSAY | A | B | C |
|-----------------|-------|-------|-------|
| Počet stanovení | 16 | 16 | 16 |
| IP priemer | 0,173 | 1,213 | 1,961 |
| IP SD | 0,018 | 0,099 | 0,096 |
| C.V. % | 10,41 | 8,16 | 4,90 |

Reprodukovateľnosť

| INTER-ASSAY | A | B | C |
|-----------------|-------|-------|-------|
| Počet stanovení | 15 | 17 | 14 |
| IP priemer | 0,556 | 1,739 | 3,300 |
| IP SD | 0,076 | 0,221 | 0,461 |
| C.V. % | 13,67 | 12,71 | 13,97 |

Recovery

Metódou štandardného prídavku sa získajú hodnoty 80 - 120%.

UPOZORNENIE

- Súprava je určená pre profesionálne in vitro použitie v laboratóriu.
- V prípade výskytu nežiaducich príhod, tieto hláste na č. tel. +421 55 6228 131, biogema4@stonline.sk
- Jednotlivé substancie súpravy obsahujú konzervačné činidlo timerosal, ktoré môže pri priamom kontakte s pokožkou spôsobiť podráždenie. V prípade kontaktu s pokožkou postihnuté miesto vymyte veľkým množstvom vody.
- Kyselina sírová, v koncentrácii 0,5 mol.l⁻¹, môže pri priamom kontakte s očami alebo pokožkou spôsobiť podráždenie. V prípade zasiahnutia očí alebo kože postihnuté miesto vymyte veľkým množstvom vody.
- Timerosal a kyselina sírová v koncentráciách, ktoré sú použité v súprave, sú zdraviu škodlivé. Vzhľadom k nízkemu obsahu škodlivých látok v substanciiach súpravy životné prostredie nie je ohrozené.
- Kontrolné vzorky obsahujú ľudské sérum. Ľudské sérum použité na prípravu týchto substancii vykazovalo negatívnu reakciu na prítomnosť antigénu HBsAg, HIV 1, HIV 2 a HCV. Žiadna metóda stanovenia však nie je schopná dať stopercentnú istotu, preto so substanciami obsahujúcimi ľudské sérum pracujte ako s infekčným materiálom, pri práci používajte rukavice.
- Výrobca ručí za výsledky dosiahnuté súpravou ELISA-anti-LAKTÓZA-II-A len v prípade dodržiavania návodu a skladovacích podmienok.

LIKVIDÁCIA ODPADU

Nepoužité zvyšky patientskych vzoriek a substancie obsahujúce ľudské sérum likvidujte ako infekčný materiál, ostatný materiál a nepoužité zvyšky súpravy obsahujúce nebezpečné chemické látky odporúčame tiež zabezpečiť v súlade s ustanoveniami zákona NR SR č. 223/2001 Z.z. a vyhlášky MŽP SR č. 284/2001 Z.z.

SKLADOVANIE A STABILITA

Súpravu skladujte pri 2 - 8 °C. Doba expirácie súpravy je 9 mesiacov odo dňa výroby, ak sú substancie v pôvodnom stave. Neodporúčame kombinovať substancie viacerých šarží.

| | | | | | |
|--|---|---|--|---|-------------------------------------|
|  EN ISO 9001 v platnom znení | Certifikovaný systém manažérstva kvality |  | Pozorne prečítajte návod na použitie |  | Podniková norma |
|  EN ISO 13485 v platnom znení | Certifikovaný systém manažérstva kvality pre zdravotnícke pomôcky |  | Nepoužívať opakovane |  | Použiť do |
|  | Značka zhody so Smernicou Európskeho parlamentu a Rady 98/79/ES a NV SR č.569/2001 Z.z. |  | Diagnostický zdravotnícky prostriedok IN VITRO |  | Jednorazový obal po použití vyhodit |
|  | Obmedzenie teploty |  | Výrobca |  | Neškodí životnému prostrediu |
| | |  | Číslo šarže |  | Recyklovateľný obal |
| | |  | Katalógové číslo | | |

