



BIOGEMA

Garbiarska 2, 04001 KOŠICE



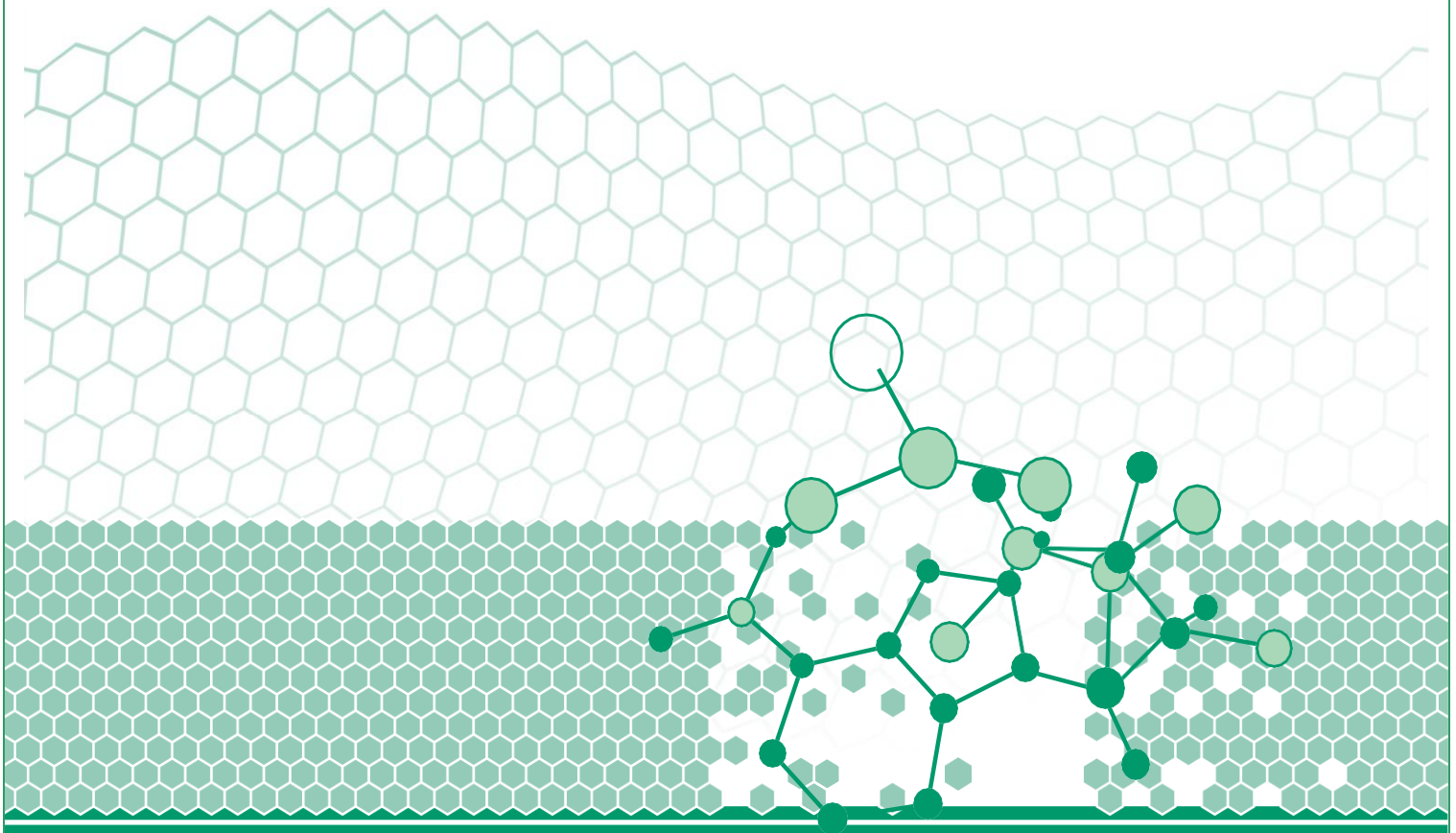
Návod na použitie

ELISA-anti-LAKTÓZA-A

REF E-270



IVD



Súprava ELISA-anti-LAKTÓZA-A je určená na stanovenie špecifických protilátok triedy IgA proti mliečnemu cukru - laktóze v ľudskom sére. Umožňuje stanovenie 21 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 chrenovej 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

6 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 vyriadené v zriedovacom roztoku, pripravené na použitie. Absorbancie kontrolných vzoriek sú uvedené v Osvedčení o súprave.

3. Konjugát HRP-anti-IgA

1 fľaštička (8 ml) s konjugátom HRP-anti-IgA. Je pripravený na použitie.

4. Substrát TMB

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

5. Zriedovacie roztok

1 fľaštička (50 ml) s TRIS-HCl tlivým roztokom s obsahom 0,02% timerosalu a ružového farbiva, pH $7,0 \pm 0,2$. Je pripravený na použitie.

6. Vymývacie roztok

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

7. Kyselina sírova

1 fľaštička (8 ml) s roztokom $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ 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 $2-8 \text{ }^{\circ}\text{C}$. 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 $18 - 25^{\circ}\text{C}$.
- 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 vymývacie 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 premývačka pre mikrotitračné doštičky, premývanie spočíva v napipetovaní cca. 250 μl vymývacieho roztoku do všetkých použitých jamiek. Po 30 sekundách sa vymývacie 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

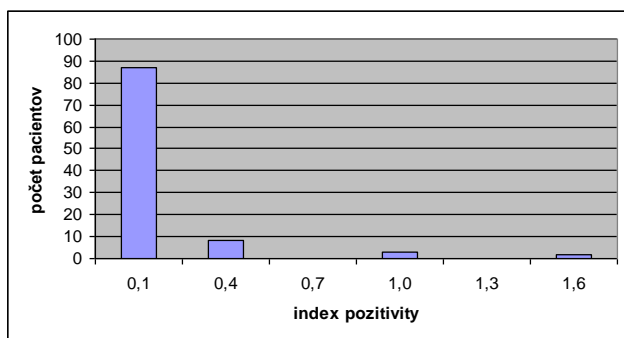
- Vypočítajte priemerné absorbancie pre všetky kontrolné vzorky a pacientske séra
- Vypočítajte index pozitivity podľa vzorca:

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

IP = index pozitivity

\bar{A} = priemerná absorbanca

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@biogema.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-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 |  <i>i</i> | Pozri návod na používanie |  PN | Podniková norma |
|  EN ISO 13485 v platnom znení | Certifikovaný systém manažérstva kvality pre zdravotnicke pomôcky |  | Nepoužívať opakovane |  | Použiteľné do |
|  CE | Značka zhody so Smernicou Európskeho parlamentu a Rady 98/79/ES a NV SR č. 569/2001 Z.z. |  IVD | Diagnostická zdravotnicke pomôcka <i>in vitro</i> |  | Jednorazový obal po použití vyhodit' do príslušnej zbernej nádoby |
|  -2°C | Obmedzenie teploty |  | Výrobca |  | Zelený bod |
|  | Dátum výroby |  LOT | Kód dávky |  | Recyklovateľný obal |
|  | Chrániť pred slnkom |  REF | Katalógové číslo |  | Varovanie |
|  CONTROL+ | Pozitívna kontrola |  | Obsah postačuje na n skúšok |  CONTROLCO | Cut off kontrola |
|  CONJUGATE | Konjugát HRP |  CONTROL- | Negatívna kontrola |  STOP | Kyselina sirová |
|  WASHBUF | Vymývaci roztok |  SUBSTRATE | Substrát TMB |  PLATE | Mikrotitračná doštička potiahnutá antigénom |
| | |  SAMPLEBUF | Zried'ovací roztok | | |



BIOGEMA, výrobné družstvo, Košice

Garbiarska 2, 040 01 Košice, SR

Tel.: +421 55 - 633 6753, 622 5719, 622 8131

e-mail: biogema3@biogema.sk www.biogema.sk



01/2022

BIOGEMA CZ, s.r.o.

Šromova 803/1b, 643 00 Brno

Tel.: +420 545 578 255, mobil +420 603 973 047

e-mail: biogema@biogema.cz www.biogema.cz

Distribúcia v ČR

Odporúčania na spracovanie súprav na ELISA automatoch.

Nastavenie teploty v automatizovanom systéme musí byť zabezpečené tak, aby bolo v súlade s odporúčanou teplotou uvedenou v návodoch pre spracovanie súprav.

Odporúčame zabezpečiť aby substrát v automate nebol vystavený svetlu a aby sa tým eliminovala možnosť jeho znehodnotenia (zmodranie na svetle). Odporúčame mať počas spracovania súpravy zatvorený hlavný kryt automatizovaného systému.

Pre každé spracovanie súpravy použiť a nariediť iba potrebné množstvo čerstvých substancií. Ak už vzniknú prebytky z predchádzajúcich meraní (napr. vymývacieho roztoku, štandardov ...) neodporúčame na ďalšie použitie aj keď boli uskladnené v chlade.

Pred samotným spracovaním v automatizovanom systéme je dôležité dodržať odporúčania ohľadne vytemperovania substancií (vplyv na presnosť merania) a mikrotitračnej platničky (eliminovať možnosť kondenzátu po vybratí z uskladnenia v chlade).

Substancie používať iba v rámci príslušnej šarže a súpravy (nesmú sa miešať substancie medzi rôznymi šaržami)

Odsledovať časový priebeh jednotlivých krokov v rámci spracovania súpravy v automatizovanom systéme či korešponduje s odporúčaným postupom uvedeným v návode (hlavne po fáze premývania by mala byť hneď pridaná príslušná substancia - konjugát, substrát). V prípade nesúladu konzultovať správne programové nastavenia so servisným technikom.

Skontrolovať správny priebeh každého kroku spracovania súpravy v automatizovanom systéme – napr. nevšimnutie si, že sú zlepené prívodné hadičky spôsobí zlé premytie platne.



BIOGEMA, výrobné družstvo, Košice

Garbiarska 2, 040 01 Košice, SR

Tel.: +421 55 - 633 6753, 622 5719, 622 8131

e-mail: biogema3@biogema.sk www.biogema.sk



01/2022

BIOGEMA CZ, s.r.o.

Šromova 803/1b, 643 00 Brno

Tel.: +420 545 578 255, mobil +420 603 973 047

e-mail: biogema@biogema.cz www.biogema.cz

Distribúcia v ČR