

90 FOOD IgG SCREENING ELISA KIT

Pre semikvantitatívne stanovenie protilátok proti potravinovým alergénom v ľudskom sére.



FIG - 90



3x96 testov v súprave

MEDITERRANEAN PANEL

Doporučené použitie

Food IgG Screening ELISA je test určený pre meranie relatívneho množstva špecifických protilátok IgG v ľudskom sére proti 90 potravinám. Získané hodnoty musia byť vždy v korelácii s klinickým obrazom, nakoľko zvýšenie určitej protilátky špecifickej pre potraviny sám o sebe nemusí nutne znamenať ochorenie. Táto súprava neposkytuje informácie o alergiách spojených s IgE.

Téma potravinovej intolerancie a úlohy potravín a potravinárskych prídavných látok ako prírodných faktorov pri chorobnej precitlivosti na potraviny vyvolávajú niekoľko rokov značný záujem. Bežné potraviny zahŕňajú kravské mlieko, vajcia, pšenicu, kukuricu, čokoládu, orechy, sóju, a kôrovce. Asi 0,5% detí môže mať precitlivelé reakcie na kravské mlieko. Výskumné štúdie naznačujú, že u detí s preukázanou precitlivosťou na potraviny, je pravdepodobnosť, že u ďalších súrodencov sa zvyšuje precitlivosť na potraviny až o 50%. Väčšina potravín, ktoré patria do jednej skupiny môže mať spoločné alergénne vlastnosti, a niekedy aj potraviny z dvoch rôznych skupín môžu vykazovať kros-reaktívne alergické reakcie. Ak chcete znížiť niektoré potravinové intolerančné reakcie, môžu sa odporúčať varené jedlá, pretože varené jedlo môže byť menej alergogénne ako surové potraviny.

Väčšina bežných alergických príznakov na potraviny súvisia s gastrointestinálnymi problémami a môžu zahŕňať nevoľnosť, hnačku a bolesti brucha. Medzi klinické prejavy potravinovej intolerancie patria aj klasické alergické symptómy, ako je anafylaxia, alergická nádcha, atopická dermatitída a žihľavka. Úloha potravinovej neznášanlivosti u stavov, ako je migréna a alergický únavový syndróm je sporná. Je dôležité si uvedomiť, že príznaky intolerancie potravín, najmä gastrointestinálne symptómy, môžu byť napodobňované radom ďalších stavov.

PRINCÍP STANOVENIA

Táto súprava je založená na ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) mikro platničovej technológii. Detekuje množstvo špecifických IgG u pacientov. Konkrétne alergény sú samostatne naviazané do mikrotitračných jamiek. Alergény sa nechajú reagovať so špecifickými protilátkami prítomnými v sére pacienta. Nadbytok sérových proteínov sa odstráni v premývacom kroku. Enzýmom značená protilátka sa nechá zreagovať na komplex alergén-protilátka. Sfarbenie je vytvorené pridaním substrátu, ktorý reaguje s enzýmom. Po ukončení reakcie, sa následne zmeria hodnota absorbancie pri vlnovej dĺžke 450 nm. Hodnota absorbancie je priamo úmerná (kubický polynómu linearity) koncentracii špecifických protilátok IgG pre konkrétny alergén.

OBSAH SÚPRAVY

- 90 Foods Coated Microwells**
.....3 platničky x 96 jamiek/ platnička
- Serum Diluent (Zelená) obsahuje nosný proteín rozpustený v Tris buffry**
.....1 x 56 ml
- Foods IgG Calibrator obsahuje ľudské sérum pre vytvorenie štandardnej krivky**
.....1 x 1.0 ml
- Foods IgG Positive Control obsahuje ľudské sérum pre overenie validity reagensii**
.....1 x 1.0 ml
- Wash Buffer (koncentrát) obsahuje tween rozpustený vo fosfátovom buffry**
.....1 x 30 ml
- Foods IgG-HRP Conjugate** obsahuje kozie anti-human IgG konjugované s chrenovou peroxidázou a nosný proteín rozpustený v Tris buffry
.....1 x 33 ml
- Substrate Solution A** obsahuje tetramethylbenzidine (TMB) rozpustený v buffry kyseliny citrónovej
.....2 x 12 ml
- Substrate Solution B** zloženie peroxid vodíka v buffry kyseliny citrónovej
.....2 x 12 ml
- Stopping Solution (H₂SO₄)**
Obsahuje 0,5M kyselinu sírovú
.....1 x 20 ml

Poznámka: Táto testovacia súprava je ucelený systém, preto nekombinujte činidlá iných dodávateľov alebo časti súprav odlišných šarží s touto súpravou. Nepoužívajte komponenty po dátume expirácie.

MATERIÁLY POTREBNÉ, ALE NEDODANÉ

- Nádoby na prípravu wash roztoku, substrátu a riedenie vzoriek séra a potravinových kalibrátorov IgG.
- Presné dávkovacie pipety
- Parafilm
- Destilovaná alebo deionizovaná voda (D.I.)
- Plne automatický alebo poloaautomatický reader s filtrom 450 nm, ktorý je schopný merať 2,0 absorpčnej jednotky

TRVANLIVOSŤ A SKLADOVANIE

Súprava sa skladuje pri teplote 2-8 ° C do uvedeného dátumu expirácie. Nezmrazujte súpravu ani jej komponenty. Doba použiteľnosti je 18 mesiacov za vhodných skladovacích podmienok. Nepoužívajte súpravu po uvedenom dátume expirácie.

ODBER VZORKY

Testovanie sa robí vo vzorkách séra. Test vyžaduje približne 0,1 ml séra. Vzorka sa odoberá v súlade so štandardnými postupmi, a je stabilná 8 hodín pri izbovej teplote. Sérum možno skladovať pri teplote 2-8 ° C až po dobu dvoch dní, alebo môže byť zmrazené na -20 ° C až po dobu jedného roka.

PRÍPRAVA REAGENCIÍ A SKLADOVANIE

Wash Buffer

Pridajte 30 ml Wash Bufru do destilovanej alebo D.I. vody a doplňte na konečný objem 2000ml. Označte ju ako pracovný Wash Buffer a skladujte pri teplote 2-8 ° C. Pracovný premývací pufer je stabilný 6 mesiacov pri teplote 2-8 ° C.

Poznámka: V niektorých prípadoch sa pri skladovaní v koncentrácii Wash Bufru (3: 200), pri teplote 2-8 ° C môžu tvoriť kryštály. Je dôležité, aby sa pred zarábaním koncentrátu úplne rozpustili. To možno dosiahnuť zahriatím koncentrátu na 37 ° C vo vodnom kúpeli za občasného miešania.

Substrate Solution

Zmiešajte roztok substrátu A a B v rovnakom pomere 30 minút pred použitím. Napríklad zmiešajte po 5 ml z každého z roztokov A aj B pre každú platničku, ktorá má byť použitá.

Poznámka: Nezamieňajte kryty z týchto roztokov. V prípade, že roztok substrátu vyzerá pred použitím modro sfarbený, mal by byť odstránený. Zmes roztoku substrátu je pri izbovej teplote stabilná po dobu 60 minút.

PRACOVNÝ POSTUP

1. Uvedte pred použitím všetky činidlá zo súpravy na izbovú teplotu (20-28 ° C).
2. **PRÍPRAVA PRE JEDNU KALIBRAČNÚ KRIVKU:** Označte štyri 12 x 75 mm sklené skúmavky ako 50, 100, 200 a 400 U/ml. Napipetujte 150 µl sérového rozpúšťadla do týchto štyroch skúmaviek. Pridajte 150 µl Food IgG kalibrátora do skúmavky označenej ako 400 U/ml. Premiešajte a preneste 150 µl do skúmavky označenej 200 U/ml. Premiešajte a preneste 150 µl do skúmavky označenej 100 U/ml. Opäť premiešajte a preneste 150 µl do skúmavky označenej 50 U/ml. V tomto momente by ste mali mať po 150 µl v skúmavkách 100, 200 a 400 U/ml, a 300 µl v skúmavke 50 U/ml. To bude kalibračná krivka použitá v teste. Preneste 100 µl z každej z týchto skúmaviek na mikrotitračné doštičky, podľa rozpisu.

Skúmavka	jamka
50 U/ml	1B
100 U/ml	1C
200 U/ml	1D
400 U/ml	1E

3. pridajte 300 µl sérového diluentu do jamky 1A pre jamku blanku a 100 µl pozitívnej kontroly do jamky 1F.
4. pridajte 10 ml sérového diluentu do 0,1ml patientskej vzorky a premiešajte.

Poznámka: Nariedte Food IgG kalibrátory podľa kroku 3. Food IgG pozitívna kontrola sa neriedi.

5. Pridajte 100 µl nariedeného patientskeho séra do všetkých zvyšných jamiek. Vo všetkých jamkách by malo byť 100 µl tekutiny.
6. Zakryte platničky parafilmom alebo plastovou fóliou a inkubujte 60±2 minút pri izbovej teplote (20-28°C).
7. Po 60 minútovej inkubácii premyte všetky jamky trikrát 300 µl pracovného premývacieho pufru ručne, alebo automatizovanou premývačkou. Jamky by mali byť úplne naplnené pracovným premývacím pufrom . po premývanom kroku jamky odsajte.
8. Pridajte 100 µl Foods IgG-HRP konjugátu do všetkých jamiek. Platničku inkubujte 30±2 minúty pri izbovej teplote (20-28°C).
9. Premyte platničku 3x ako v kroku 8.
10. Pridajte 100 µl pracovného roztoku substrátu do všetkých jamiek. Zakryte platničku a inkubujte 10±2 minút pri izbovej teplote (20-28°C).
11. Pridajte 50 µl stop roztoku do všetkých jamiek modré sfarbenie v jamkách sa zmení na žlté.
12. Nastavte reader na 450nm a odčítajte absorbancie v jamkách.

ODPORÚČANIE KU PRACOVNÉMU POSTUPU

1. Optimálny priebeh zaručíte presným dodržaním pracovného postupu. Neskracujte, ani nepredlžujte

premývacie časy nakoľko to môže zvýšiť hodnotu signálu pozadia.

2. S výnimkou náhrady patientskeho séra v jamke blanku sérovým diluentom, ostatné uvedené pracovné kroky musia byť striktne dodržané.
3. Použite pozitívnu kontrolu na sledovanie stability reagensov a správnosť pracovného postupu.
4. Štandardnú krivku vytvorte z Food IgG kalibrátorov.

VÝPOČET VÝSLEDKOV

Aby sa odstránil vplyv rozdielného premývania, rozdielov v pomôckach, a iné, hodnoty vzoriek sú štandardizované podľa nasledujúceho cubicpolynomialneho vzorca:

$$Y = AX^3 + BX^2 + CX + DY$$

Poznámka: X predstavuje štandard pre aktivitu (U / ml) sérovej vzorky alebo pozitívnej kontroly.

Y je absorbancia vzorky séra alebo pozitívnej kontroly.

KONTROLA KVALITY

Pre platnosť musí test spĺňať nasledujúce Q.C. špecifikácie pre O.D. (Optická denzita) pri 450 nm.

O.D. BLANK	< 0.2
O.D. 50 CAL	> 1.2 x OD BLANK
O.D. 100 CAL	> 1.2 x OD 50 CAL
O.D. 200 CAL	> 1.2 x OD 100 CAL
O.D. 400 CAL	> 1.2 x OD 200 CAL
Koncentrácia pozitívnych	> 100 U/ml

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

Absorbancie po extrapolácii ako U/ml by mali byť interpretované pre každý alergén, alebo extrakt. Rozdeľovací štandard pre negatívne výsledky je odvodený od testov sér s normálnou hodnotou. Vo väčšine prípadov, výsledky s hodnotami v rozsahu <50U/ml sú negatívne, ale niekedy pre niektoré individuálne bežné séra môžu byť slabšie pozitívne.

HDONOTY	INTERPRETATÁCIA
< 50 U/ml	Negatívne 0
50 - 100 U/ml	mierne alergická +1
100 - 200 U/ml	stredne alergická +2
> 200 U/ml	vysoko alergická +3

OBMEDZENIA

Táto testovacia súprava obsahuje mnoho druhov potravinových alergénov. Pozitívne aj negatívne výsledky možno spájať len s alergénmi naviazanými v jamkách a neznamená to, že pacienti sú alebo nie sú alergickí na ďalšie alergény.

CHARAKTERIASTIKA

Rozsah linearity

Rozsah štandardnej krivky tohto kitu je 0 ~ 400 U/ml. Vzorky s vyššou koncentráciou IgG sa riedia a znovu testujú pre stanovenie presného obsahu IgG.

Citlivosť

Citlivosť tohto kitu je menej ako 50 U/ml.

Špecifickosť

Hemoglobín, triglyceridy, IgE, IgM, IgA nemajú na základe výsledkov skúšok vykonaných na tomto kite žiadny vplyv.

Reprodukovateľnosť

Intra-lot CV (N = 40): 11%; inter-lot CV (N = 44): 15%.
Výsledky klinických štúdií

Klinické štúdie ukazujú, že bežní ľudia môžu mať tiež určité na potraviny špecifické IgG protilátky, a preto, klinickú diagnózu nie je možné vydať na základe jedného testu. Výsledky testov musia byť vždy v súvislosti s klinickým obrazom pacienta.

UPOZORNENIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

1. Súprava je určená na diagnostické použitie in vitro.
2. Dôsledné dodržanie pracovného postupu zabezpečuje optimálny priebeh. Neskracujte ani nepredlžujte uvedené doby inkubácie pretože to môže mať za následok nesprávny testovací výsledok.
3. Niektoré reagenty obsahujú azid sodný, ktorý môže reagovať s oloveným alebo meďným potrúbím a vytvárať vysoko expozívne kovové azidy. Pri likvidácii, spláchnite veľkým objemom vody, aby sa zabránilo tvorbe azidov.
4. Zastavovací roztok obsahuje 1N H₂SO₄. Toto je silná kyselina a je potrebné s ňou zaobchádzať opatrne. Môže spôsobiť poleptanie a je potrebné narábať v rukaviciach. Použite ochranné prostriedky očí a vhodný ochranný odev. Pri zasiahnutí okamžite opláchnite veľkým množstvom vody.
5. základom kalibrátorov a kontrol je ľudské sérum. Použité ľudské séra boli testované, nereaktívne HBsAg, anti-HIV 1/2 a anti-HCV pomocou FDA licencovaných činidiel. Pretože neexistuje testovacia metóda, ktorá by poskytla úplnú istotu, že HIV, vírus hepatitídy B, alebo iné infekčné agensy chýbajú, tieto činidlá by sa malo považovať za potenciálne infekčné

MAPA ROZLOŽENIA ALERGÉNOV NA MIKROPLATNIČKE

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	blank	jabĺko	brokolica	mangold	treska	cesnak	ľadový šalát	horčičné zrnko	hruška	ryža	tekvica	pstruh
B	Kal. 1	artičoky	maslo	syr (cottage)	káva	hrozno biele, konkordia	citrón	ovos	čierne korenie	raž	kalmár	tuniak
C	Kal. 2	špargľa	kapusta	syr (údený)	oriešky kola	grep	šošovica	oliva	Fazuľa strakatá	losos	jahoda	morka
D	Kal. 3	avokádo	Trstinový cukor	cícer	kukurica	zelený hrášok	biela fazuľa	cibuľa	ananás	sardinka	fazuľa struk	Čierny orech
E	Kal. 4	banán	melón kantáľup	kurča	kravské mlieko	zelené korenie	homár	pomaranč	slivka	gamát	semienko slnečnice	pšenica
F	pozit. kontrola	celozrnný jačmeň	mrkva	čokoláda	uhorka	morská štika	slad	petržlen	bravčové maso	ryba SOLE	sladký zemiak	Pekárske kvasnice
G	mandle	hovädzina	karfiol	škoric	Vajce bielko/žltok	med	majorán	broskyňa	zemiak	S'ja	čierny čaj	Pivné kvasnice
H	americký syr	repa	zeler	mušle	baklažán	jahňacina	huby	arašidy	králik	špenát	paradajka	jogurt

				 8°C 2°C	
Lot-number	European conformity	Sufficient For <n> tests	For in vitro Diagnostic use	Temperature Limit	Use before
					
Catalogue Number	Consult instructions for use	Refer accompanying documents	Do not use when Package is damaged	Do not Re-use	Manu- factured by

REFERENCIE:

1. Anderson, C.M. and Burke, V. Pediatric Gastroenterology, Oxford: Blackwell, 1975.
2. Back, S.A., Lee, W.Y., Remigio, L.K. and May, C.C. Studies of hypersensitivity reactions to foods in infants and children. J. Clin. Allergy Immunol., 62, 327, 1978.
3. Eastham, E.J. and Walker, W.A. Adverse effects of milk formula ingestion on the gastrointestinal tract. Gastroenterol., 76, 366, 1979.
4. Kuitunen, P., Visakorpi, K. J., Savilahti, E. and Pelkonen, P. Malabsorption syndrome with intolerance: Clinical findings and course in 54 cases. Arch. Dis. Child., 54, 351, 1975.
5. All, M., et al. Serum concentration of allergy specific IgG antibodies in inhalant allergy: Effects of specific immunotherapy. Amer. J. Clin. Pathol., 80, 290, 1983.
6. Farrel, M. Food allergy, in Manual of Allergy and Immunology, ed: Lawlor, G.J. and Fischer, T.J., 1982.



Meridian Healthcare srl
Via Caronda, 446/SC. A , 95129 Catania , Italy
Tel: +39 095 725 68 69

