

93 Foods IgG Screen ELISA Kit

souprava na stanovení IgG protilátek

proti 93 druhům potravin

Kat. číslo GD14

Souprava je určena pouze pro in-vitro diagnostiku

100299

Použití

Souprava určená ke stanovení intolerance potravin, představuje rychlou vyšetřovací metodu ELISA pro zjištění přítomnosti a výše hladiny IgG protilátek proti různým potravinovým antigenům v lidském krevním séru. *Výsledky testu se vždy musí uvést do souvislosti s výsledky klinického vyšetření pacienta, protože ani zvýšená hladina protilátek IgG proti potravinovým alergenům se nemusí působit negativní symptomy.* Výsledky tohoto testu nedávají žádné informace o alergii vyvolané IgE. Komponenty této soupravy jsou určeny pouze pro použití k výzkumu.

Úvod

Někteří lidé vykazují chronické reakce na určité potravinové antigeny. Na rozdíl od okamžitého efektu alergie zprostředkované IgE, se reakce citlivosti na potraviny zprostředkovaná IgG může objevovat i po několika dnech.

S přecitlivělostí na určité druhy potravin mohou být spojeny následující syndromy: celková otupělost, přibírání na váze, dermatitida, artritida, chronická únava a stěvná potíže. Pacientův stav může velmi zlepšit cílené odstranění alergizujících potravin z jeho jídelníčku.

Princip testu

Souprava využívá mikrotitrační destičku s 96 jamkami. Na jejich povrchu jsou nanášeny extrakty antigenů z 93 druhů potravin. Do jamek se přidá vzorek krevního séra (zředěný v poměru 1 : 401) a inkubuje se dobu 30 minut. Na antigeny v jamkách se naváží protilátky specifické pro danou potravinu přítomné v testovaném vzorku.

Po promytí destičky se specificky navázané protilátky detekují pomocí specifického konjugátu (králíčího anti-lidské IgG a peroxidázy). Po 30-minutové inkubaci je nenavázaný konjugát odstraněn promytím. Přidá se TMB substrát. V jamkách, ve kterých jsou přítomny protilátky specifické pro danou potravinu, se objeví modré zbarvení, které se po přidání stop-roztoku změní na žluté. Intenzita zbarvení žlutého roztoku se pak měří ELISA readerem s použitím filtrů o OD 450 nm a 620 nm.

Materiály dodávané v soupravě

- **Mikrotitrační destička:** 96 jamek s výtažky 93 antigenů různých potravin; rozložení jamek je na straně 2.
- **Reagens 1:** Roztok na ředění vzorků, obsah 10 ml, (barva modrá), připraven k okamžitému použití.
- **Reagens 2:** Koncentrovaný promývací roztok; před použitím naředte na 1200 ml.
- **Reagens 3:** Enzymatický konjugát (roztok HRP-anti-IgG); 12 ml; barva červená; připraven k okamžitému použití.
- **Reagens 4:** Enzymatický substrát TMB; 12 ml, připraven k okamžitému použití.
- **Reagens 5:** Stop-roztok, 12 ml, připraven k okamžitému použití.
- **Kalibrační vzorky protilátek:** 0 a 25 U/ml; 0,3 ml od každého; připraveny k okamžitému použití.
- **Pozitivní kontrolní vzorek:** 0,3 ml, připraven k okamžitému použití.
- **Inkubační sáček a návod k použití**

Další vybavení potřebné pro provedení testu

pipety 10µl, 100µl a 1000µl; multikanálová pipeta; ELISA reader s filtrem 450 nm, zařízení na promývání mikrotitračních destiček, destilovaná nebo deionizovaná voda, běžné laboratorní vybavení.

Skladování a bezpečnostní opatření

- Soupravu skladujte při teplotě 2 - 8°C. Nepoužívejte soupravu po uplynutí data expirace.

- kalibrátor 25U/ml a pozitivní kontrolní vzorek jsou vyrobeny ze zředěného neinfekčního lidského krevního séra. Je však nutno dodržovat bezpečnostní postupy běžné v klinické laboratoři.
- Při manipulaci se sérem pacienta nebo s výrobky vyrobenými z krevního séra používejte vždy pracovní rukavice a ochranný oděv
- Stop roztok obsahuje 0,25molární kyselinu sírovou (pozor žíravina)

Vzorky

Vzorky krevní plazmy nebo séra by měly být dlouhodobě skladovány při teplotě -20°C. Opakované zmrazování a rozmrazování může ovlivnit výsledky testů.

Metoda

Před zahájením práce ponechte všechny materiály dosáhnout pokojové teploty.

Sérum nebo plasma odebrané pacientovi musí být před použitím v testu zředěny v poměru 1 : 401. Přidejte přesně 25 µl séra do ampule s roztokem pro ředění vzorků (**Reagens 1**) a vše pečlivě promíchejte. Tak vznikne roztok v poměru 1 : 401.

Je velmi důležité dávkovat předředěné vzorky i standardy do jamek bez jakékoli prodlevy. Pomalé dávkování nebo přestávky v postupu dávkování mohou způsobit zkreslení výsledků testu.

Standardy

Dávkujte po 100 µl každého standardu do jamek podle následujícího schématu:

Číslo jamky	Standard
A1	0 U/ml
B1	25,0 U/ml

Pozitivní kontrolní vzorek

Dávkujte 100µl pozitivní kontroly do jamky C1.

Sérum odebrané pacientovi

Dávkujte po 100µl předředěného vzorku séra do jamek D1 až H12.

Mikrotitrační destičku inkubujte při pokojové teplotě po dobu **30 minut**. Během všech inkubací se vyhýbejte vystavení destičky slunečnímu světlu nebo přímému působení zdroje tepla.

Rozřeďte promývací pufr (**Reagens 2**) na obsah 1 200 ml.

Po inkubaci odsajte obsah jamek, a každou z nich pečlivě třikrát promyjte alespoň 350 µl promývacího pufru. Pečlivě promyťte je klíčem k dobrým výsledkům testu.

Osušte povrch mikrotitrační destičky savým papírem. **Nenechávejte jamky vyschnout. Okamžitě přidejte konjugát.**

Do každé jamky dávkujte 100 µl konjugátu (**Reagens 3**). Tento reagens je označen červeně. Nepoužívejte pro dávkování konjugátu a substrátu stejných špiček.

Mikrotitrační destičku inkubujte při pokojové teplotě po dobu **30 minut**. Pak odsajte obsah jamek a každou z nich pečlivě čtyřikrát promyjte alespoň 350 µl promývacího pufru.

Osušte povrch mikrotitrační destičky savým papírem. **Nenechávejte jamky vyschnout. Okamžitě přidejte substrát.**

Pomocí multikanálové pipety s čistými špičkami přidejte do každé jamky 100 µl TMB substrátu (**Reagens 4**).

Mikrotitrační destičku inkubujte po dobu **10 minut** a pak do každé jamky přidejte 100 µl stop-roztoku (**Reagens 5**). Abyste zajistili, že reakční doby budou pro všechny jamky stejné, měli byste stop-roztok dávkovat do jamek ve stejném pořadí v jakém jste do nich dávkovali TMB substrát.

Do deseti minut změřte intenzitu zabarvení ELISA readerem s filtrem 450 nm (alternativně 450 a 620 nm, duální vlnová délka). Žluté zabarvení je stabilní až jednu hodinu, pokud je destička uložena v temnu.

Výpočet výsledků

Naměřené hodnoty optické hustoty vyneste do grafu ve vztahu ke koncentracím. Vynesené body spojte přímkou. Z této čáry můžete vyčíst koncentraci protilátek IgG pro každý uvedený typ potravin.

Interpretace výsledků

Výsledky tohoto testu se musí interpretovat v souvislostech s dalšími klinickými informacemi zjištěnými o každém z testovaných pacientů. Zvýšená hladina IgG neindikuje žádný specifický chorobný proces. Následující tabulka je jen pomůcka pro vaši lepší orientaci:

odpověď	třída	rozpětí (U/ml*)
normální		< 8
hraniční	(1+)	8 - 12.5
středně silná reakce	(2+)	12.5 - 25.0
pozitivní	(3+)	>25.0

*pracovní jednotky

Tato rozpětí jsou založena na omezeném výzkumu firmy 'Genesis Diagnostics' a uživatelé by si měli stanovit svá vlastní rozpětí.

Zabezpečení jakosti

Pozitivní kontrolní vzorek by měl vykazovat hodnoty vyšší než 25 U/ml.

Shrnutí metodiky

- Předředte sérum v ampuli ředícího roztoku v poměru 1:401.
- Dávkujte 100µl standardů a předředěných vzorků.
- Inkubujte při pokojové teplotě po dobu **30 minut**.
- *Třikrát promyjte jamky.*
- Dávkujte 100 µl konjugátu do všech jamek (**Reagens 3**).
- Inkubujte při pokojové teplotě po dobu **30 minut**.
- *Čtyřikrát promyjte jamky.*
- Dávkujte 100 µl TMB-substrátu do všech jamek (**Reagens 4**).
- Inkubujte při pokojové teplotě po dobu **10 minut**.
- Dávkujte 100 µl stop-roztoku do všech jamek (**Reagens 5**).
- Do 10 minut změřte optickou hustotu při **450 nm**.

Literatura

- James, M (1999) Nat Med J 2(4):7-15
 Henz, BM et al (1998) Exp Dermatol 7(4):139-42
 MacDonald, TT (1995) Clin Exp Allergy 25(S1):10-13
 Edwards, AM (1995) Clin Exp Allergy 25(S1):16-19
 Hirsch, C (1995) Health News and review. Winter 1995 9(2)
 Garcia, BE et al (1990) Allergol Immunopathol (Madr)18(4):187-90
 Nanda, R et al (1988) Gut 30(8):751-755
 Kemeny, DM et al (1986), Clinical Allergy 16(6): 571-581

Rozložení antigenů na destičce - 93 Food IgG

Jamka	Antigen potravin	Jamka	Antigen potravin
A1	kalibrační jamka 0.0	A7	salát
B1	kalibrační jamka 25.0	B7	cibule
C1	Pozitivní kontrolní	C7	hrách
D1	ječmen	D7	paprika
E1	pohanka	E7	brambor
F1	kukuřice	F7	sójové boby
G1	tvrdá pšenice	G7	fazolové lusky
H1	proso	H7	slunečnice
A2	oves	A8	rajče
B2	rýže	B8	jablko
C2	žito	C8	meruňka
D2	pšenice	D8	banán
E2	kravské mléko	E8	černý rybíz
F2	vaječný bílek	F8	hroznové víno
G2	vaječný žloutek	G8	grapefruit
H2	ovčí mléko	H8	kiwi
A3	kozí mléko	A9	citron
B3	hovězí	B9	meloun
C3	kuřecí	C9	olivy
D3	jehněčí	D9	pomeranč
E3	vepřové	E9	broskev
F3	krůta	F9	hruška
G3	zvěřina	G9	ananas
H3	treska	H9	švestka
A4	krab	A10	jahoda
B4	sleď	B10	mandle
C4	makrela	C10	ořech para
D4	slávka jedlá	D10	ořech kešu
E4	platýz	E10	kokos
F4	garnát	F10	ořech lískový
G4	losos	G10	arašidy
H4	mořský jazyk	H10	ořech vlašský
A5	pstruh	A11	chilli
B5	tuňák	B11	česnek
C5	baklažán	C11	zázvor
D5	avokádo	D11	máta
E5	červená řepa	E11	muškát
F5	brokolice	F11	pepř
G5	zelí	G11	sezam
H5	mrkev	H11	vanilka
A6	květák	A12	rohovník
B6	čekanka	B12	kakaový bob
C6	celer	C12	káva
D6	okurka	D12	ořech kola
E6	bílé fazole	E12	hřibovité houby
F6	fazol šarlatový	F12	semeno řepky
G6	pórek	G12	čaj
H6	čočka	H12	kvasnice pivní/pekařské

Výrobce:

Genesis Diagnostics Ltd

Eden Research Park, Henry Crabb Road, Littleport,
 Cambridgeshire, CB6 1SE, United Kingdom
 Tel 01353 862220 Fax 01353 863330

Distributor:

LABOSERV s.r.o.

Hudcova 78b, 612 00 Brno
 tel. 541 243 113, fax: 541 243 114, e-mail: laboserv@laboserv.cz

