

Návod k použití

## IgG Screen Nutritional 88 ELISA

**ELISA test**

pro detekci a kvantifikaci lidských protilátek IgG proti **88 potravinovým antigenům**  
v lidském séru nebo plazmě



Kat. č.: **ILE-SCG26**

Skladování: +2 °C až +8 °C

Pouze pro diagnostické použití in-vitro

Březen 2014

**IMMUNOLAB GmbH, Otto-Hahn-Str. 16, D-34123 Kassel**

Tel: +561 491742-0, Fax: +561 491742-20, e-mail: [info@immunolab.de](mailto:info@immunolab.de)

**OBSAH**

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| <b>1</b>  | <b>Informace o výrobku .....</b>                              | <b>3</b>  |
| <b>2</b>  | <b>Úvod .....</b>   | <b>3</b>  |
| <b>3</b>  | <b>Princip testu .....</b>                                    | <b>4</b>  |
| <b>4</b>  | <b>Omezení, bezpečnostní opatření a všeobecné pokyny.....</b> | <b>4</b>  |
| <b>5</b>  | <b>Složení soupravy .....</b>                                 | <b>5</b>  |
| <b>6</b>  | <b>Další potřebné vybavení k provedení testu .....</b>        | <b>7</b>  |
| <b>7</b>  | <b>Příprava pracovních roztoků.....</b>                       | <b>8</b>  |
| <b>8</b>  | <b>Odběr a skladování vzorků .....</b>                        | <b>8</b>  |
| <b>9</b>  | <b>Pracovní postup .....</b>                                  | <b>8</b>  |
| <b>10</b> | <b>Distribuční schéma .....</b>                               | <b>9</b>  |
| <b>11</b> | <b>Hodnocení výsledků .....</b>                               | <b>10</b> |
| <b>12</b> | <b>Charakteristika soupravy.....</b>                          | <b>11</b> |
| <b>13</b> | <b>Literatura .....</b>                                       | <b>12</b> |
| <b>14</b> | <b>Schéma testu .....</b>                                     | <b>16</b> |

## 1 Informace o výrobku

IMMUNOLAB IgG Screen Nutritional 88 ELISA souprava pro detekci a kvantifikaci specifických protilátek IgG proti potravinovým antigenům séru nebo plazmě. K dostání jsou i další varianty testu určené pro jiné tělní tekutiny a lze si je vyžádat u Technického servisu společnosti IMMUNOLAB.

Souprava je určena pouze pro in vitro diagnostiku.

Sérologický nálezn je možno interpretovat pouze v kontextu s výsledky ostatních laboratorních testů a s klinickým obrazem pacienta.

## 2 Úvod

Nepřiměřené reakce lidského organismu na potravinové alergeny mohou vyvolat různé symptomy, které se v imunitním systému projevují tvorbou specifických IgE, ale i IgG a/nebo IgG<sub>4</sub> protilátek.

Statistiky ukazují, že 60 % populace trpí nesnášenlivostí vůči alespoň jednomu druhu potravin, který může vyvolat klinické příznaky s různou intenzitou projevu. Projevy mohou být od podráždění kůže přes zažívací poruchy až po migrény. Pro stanovení diagnózy při nespecifických obtížích by měly být provedeny testy na alergie nebo nesnášenlivost vůči potravinám.

Potřeba stanovení specifických IgG nebo IgG<sub>4</sub> v diagnostice potravinové intolerance vychází z poznání, že in vitro některé podtřídy IgG (zejména IgG<sub>4</sub>) jsou spojeny s degranulací bazofilních buněk a mastocytů a aktivací kaskádového komplementového systému. Vysoké koncentrace cirkulujících IgG byly naměřeny rovněž u atopických osob.

Další průzkumy ukázaly, že u osob se zánětlivými reakcemi na potraviny byly detekovány IgG, nikoli IgE protilátky. Výrazné titry IgG a IgG<sub>4</sub> protilátek byly také nalezeny u pacientů s potravinovými intolerancemi.

Kožní testy jsou na potravinové alergie zaměřeny relativně málo a jsou přínosné pouze v přítomnosti reakcí související s tvorbou IgE protilátek. Jako další alternativa pro určení potravinové alergie a intolerance bývá doporučeno držení eliminační diety. Tato metoda však silně závisí na motivaci pacientů k dodržování diety. Vzhledem k těmto omezením se v současné době stále více využívají sérologická stanovení protilátek proti různým potravinovým alergenům.

V imunitním systému, může docházet ke dvěma reakcím. Při alergické reakci na potraviny dojde k produkci IgE protilátek do hodiny po jídle, zatímco při potravinové nesnášenlivosti může nastat opožděná reakce a dochází ke vzniku potíží a produkci IgG/IgG<sub>4</sub> až po 24 – 120 hodinách.

### 3 Princip testu

Souprava IMMUNOLAB IgG Screen Nutritional 88 ELISA je založena na principu ELISA, typ sandwich. Pacient může být testován na jedné mikrotitrační destičce vůči 88 různým potravinovým antigenům, které jsou spolu s 8 referenčními antigeny (vaječný bílek) navázány na povrchu jednotlivých mikrotitračních jamek. Naředený vzorek pacienta nebo připravené standardy se pipetují do jamek mikrotitrační destičky. Vzniká vazba mezi IgG protilátkami séra a imobilizovaným antigenem v jamce mikrotitrační destičky. Po jedné hodině inkubace při 37 °C je destička promyta zředěným promývacím roztokem, čímž se odstraní nenavázaný materiál. Následně se přidá připravený peroxidázový konjugát s obsahem protilátek proti lidskému IgG a inkubuje se 30 minut při 37 °C. Po dalším promytí je pipetován substrát para-Nitrophenyl Phosphate (PNPP) a inkubuje se 60 minut, čímž se v jamkách vytvoří žluté zbarvení. Vývoj zbarvení se ukončí přidáním zastavovacího roztoku. Výsledné zbarvení se změří spektrofotometricky při vlnové délce 405 nm. Koncentrace IgG protilátek je přímo úměrná intenzitě zbarvení.

### 4 Omezení, bezpečnostní opatření a všeobecné pokyny

- Pouze pro použití in vitro! Nepožívejte ani nepolykejte! Je nutné dodržovat místní předpisy týkající se bezpečnosti práce, zákaz jídla, pití a kouření v laboratoři.
- Všechna séra, plazmy a pufry byly testovány všeobecně uznávanými metodami na HBsAg a protilátky proti HIV a HCV a jsou negativní. Přesto je nutné respektovat preventivní opatření, např. používat latexové rukavice.
- Rozlitý vzorek a reagentie je třeba setřít za použití dezinfekčního roztoku (např. 5% chlornanu sodného) a náležitě zneškodnit.
- Před prováděním testu je nutné nechat všechny reagentie vytemperovat na laboratorní teplotu (+18 °C až +25 °C).
- Před pipetováním by se všechny reagentie měly důkladně promíchat šetrným nakláněním nebo kýváním lahvičky. Vyhněte se dynamickému třepání, které vede k tvorbě pěny.
- Je důležité pipetovat reagentie ve stejných intervalech, aby ve všech jamkách mikrotitrační destičky byly zajištěny stejné podmínky testu.
- Při dávkování reagentií z lahviček se ujistěte, že nedošlo ke kontaminaci uzávěru. Vyvarujte se možného vzájemného smíchání reagentií. Obsah lahviček je často citlivý vůči oxidaci, proto se musí otevírat pouze na omezenou dobu.
- Aby nedošlo k přenosu nebo křížové kontaminaci, je nutné používat čisté jednorázové špičky na pipety.
- Všechny reagentie se musí spotřebovat do data jejich expirace.

- V souladu se správnou laboratorní praxí (SLP) a normou ISO 9001 by měly být veškeré používané laboratorní přístroje pravidelně kontrolovány z hlediska jejich přesnosti a spolehlivosti. To se týká především mikrotitračních pipet, promývacích a odečítacích zařízení (ELISA Reader).
- Je nutné zabránit kontaktu některých reagensů, především Zastavovacího roztoku a Substrátu, s kůží, očima a sliznicemi, neboť může dojít k jejich podráždění nebo poleptání a hrozí zde riziko intoxikace.

## 5 Složení soupravy

Kit obsahuje komponenty pro otestování jednoho pacienta (88 stanovení, kontroly a standardy umožňující sestavení kalibrační křivky). První stripy destičky obsahují referenční antigeny (vaječný bílek, f01) umožňující sestavení kalibrační křivky.

|  |               |
|--|---------------|
| Mikrotitrační destička potažená potravinovými antigeny | 1 × 12 stripů |
| Standard v koncentraci 0,35 U/ml                       | 1 × 0,5 ml    |
| Standard v koncentraci 0,7 U/ml                        | 1 × 0,5 ml    |
| Standard v koncentraci 3,5 U/ml                        | 1 × 0,5 ml    |
| Standard v koncentraci 17,5 U/ml                       | 1 × 0,5 ml    |
| Standard v koncentraci 50 U/ml                         | 1 × 0,5 ml    |
| Standard v koncentraci 100 U/ml                        | 1 × 0,5 ml    |
| Slabě pozitivní kontrola                               | 1 × 0,5 ml    |
| Silně pozitivní kontrola                               | 1 × 0,5 ml    |
| Konjugát   | 1 × 15 ml     |
| Substrátový roztok (TMB)                               | 1 × 15 ml     |
| Zastavovací roztok                                     | 1 × 15 ml     |
| Ředící roztok vzorků                                   | 1 × 40 ml     |
| Promývací roztok (10krát koncentrovaný roztok)         | 1 × 60 ml     |
| Pracovní návod   | 1 ks          |
| Distribuční schéma                                     | 1 ks          |

### Skladování a stabilita (viz data expirace na štítku krabičky)

Součásti soupravy uchovávejte při teplotě +2 °C až +8 °C. Po použití je nutné destičku opět zabalit, uzávěry lahvíček těsně uzavřít a soupravu uchovávat při teplotě +2 °C až +8 °C.

**Mikrotitrační destička**

12 × 8 stripů s odlamovacími jamkami potaženými 88 různými potravinovými antigeny. Pro jednoho pacienta je 88 stanovení a jeden barevně označený strip (fialový) s navázanými 8 referenčními antigeny. Použijte přiložené distribuční schéma, jehož český ekvivalent je součástí návodu (viz 10 Distribuční schéma). Připravené k použití.

**Standard 0,35 U/ml**

0,5 ml, lidská plazma ředěná PBS se stabilizátory bílkovin (BSA), obsahující specifické IgG protilátky proti vaječnému bílku v koncentraci 0,35 U/ml. Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Standard 0,7 U/ml**

0,5 ml, lidská plazma ředěná PBS se stabilizátory bílkovin (BSA), obsahující specifické IgG protilátky proti vaječnému bílku v koncentraci 0,7 U/ml. Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Standard 3,5 U/ml**

0,5 ml, lidská plazma ředěná PBS se stabilizátory bílkovin (BSA), obsahující specifické IgG protilátky proti vaječnému bílku v koncentraci 3,5 U/ml. Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Standard 17,5 U/ml**

0,5 ml, lidská plazma ředěná PBS se stabilizátory bílkovin (BSA), obsahující specifické IgG protilátky proti vaječnému bílku (f01) v koncentraci 17,5 U/ml. Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Standard 50 U/ml**

0,5 ml, lidská plazma ředěná PBS se stabilizátory bílkovin (BSA), obsahující specifické IgG protilátky proti vaječnému bílku v koncentraci 50 U/ml. Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Standard 100 U/ml**

0,5 ml, lidská plazma ředěná PBS se stabilizátory bílkovin (BSA), obsahující specifické IgG protilátky proti vaječnému bílku v koncentraci 100 U/ml. Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Slabě pozitivní kontrola**

0,5 ml, lidská plazma obsahující nízkou koncentraci specifických IgG protilátek. Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Silně pozitivní kontrola**

0,5 ml, lidská plazma obsahující vysokou koncentraci specifických IgG protilátek. Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Konjugát**

15 ml, proteinový pufr obsahující myší imunoglobulin proti lidskému IgG značený křenovou peroxidázou. Roztok v pracovním ředění.

**Substrát (TMB)**

15 ml, substrátový roztok PNPP (para-Nitrophenyl Phosphate). Roztok v pracovním ředění.

**Zastavovací roztok**

15 ml, 1 M roztok hydroxidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Ředící roztok vzorků**

40 ml, TRIS pufr se stabilizátory bílkovin (BSA). Roztok obsahuje 0,05 % azidu sodného. Roztok v pracovním ředění.

**Promývací roztok**

60 ml, 10krát koncentrovaný roztok PBS a Tween 20. Pracovní koncentrace: ředte koncentrovaný Promývací roztok v poměru 1+9 deionizovanou vodou. Pokud dojde při skladování v chladu k vysrážení krystalů, koncentrát zahřejte na 37 °C po dobu 15 minut.

**Plastové fólie**

2 kusy na překrytí mikrotitračních stripů během inkubace.

**6 Další potřebné vybavení k provedení testu**

Jedno a vícekanálové pipety pro přesné dávkování objemu 5 µl, 100 µl a 500 µl

Špičky pro jednorázové použití

Fotometr pro mikrotitrační destičky (405 nm)

Promývací zařízení

Zkumavky pro ředění vzorků

Deionizovaná voda

## 7 Příprava pracovních roztoků

### Promývací roztok

Před použitím se naředí v poměru 1 + 9 deionizovanou vodou. Pokud dojde při skladování v chladu k vysrážení krystalů, koncentrát se zahřeje na 37 °C po dobu 15 minut.

## 8 Odběr a skladování vzorků

Jako vzorek k vyšetření může být použito lidské sérum nebo plazma (EDTA, heparin). Chylózní, hemolytické nebo bakteriálně kontaminované vzorky mohou způsobit falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky. Sérum se po vysrážení a centrifugaci oddělí od krve, která byla sterilně odebrána ze žíly.

Vzorky séra či plazmy se mohou uchovávat při +2 °C až +8 °C maximálně 1 týden. Při delším skladování zmrazte na -20 °C. Vzorky by se neměly opakovaně zmrazovat a rozmrazovat.

Před provedením testu se musí vzorky (nikoli standardy a kontroly) naředit v poměru 1:101 Ředicím roztokem vzorků:

Např. 100 µl séra + 10 ml Ředicího roztoku vzorků.

Pro testování všech 88 potravinových antigenů u jednoho pacienta je potřeba 100 µl séra.

## 9 Pracovní postup

Pro spolehlivé provedení testu se doporučuje postupovat důsledně podle protokolu. Za veškeré změny a modifikace odpovídá uživatel.

Všechny reagensie a vzorky musí být před použitím vytemperovány na laboratorní teplotu, ale neměly by se této teplotě vystavovat po dobu delší, než je nezbytně nutné.

Nepoužijete-li celou destičku, zbylé stripy vraťte zpět do obalu, hermeticky uzavřete a skladujte při +2 °C až +8 °C. Důsledně chraňte před vlhkostí!

1. Připravte si pro stanovení jednoho pacienta celou mikrotitrační destičku, pro orientaci použijte distribuční schéma (viz 10 Distribuční schéma).
  - Pipetujte 100 µl standardů a kontrol **v pracovním ředění** do 8 jamek fialového stripu.
  - Pipetujte do zbývajících jamek jednotlivých jamek stripů 100 µl **ředěného** (1:101) vzorku.
2. Destičku překryjte přiloženou fólií a inkubujte 60 minut při 37 °C.
3. Odsajte obsah jamek mikrotitrační destičky a přidejte 300 µl zředěného promývacího roztoku do každé jamky. Tento postup se opakuje celkem třikrát. Na závěr vyklepejte zbytky roztoku do svého materiálu.



4. Dávkuje do každé jamky 100 µl Konjugátu.
5. Destičku překryjte přiloženou fólií a inkubujte 30 minut 37 °C.
6. Odsajte obsah jamek mikrotitrační destičky a přidejte 300 µl zředěného promývacího roztoku do každé jamky. Tento postup se opakuje celkem třikrát. Na závěr vyklepejte zbytky roztoku do svého materiálu.
7. Dávkuje do každé jamky 100 µl Substrátu.
8. Destičku překryjte přiloženou fólií a inkubujte 60 minut při 37 °C v temnu.
9. Reakce Substrátu se ukončí přidáním 100 µl Zastavovacího roztoku do každé jamky.
10. Po důkladném promíchání a setření dna destičky odečtěte absorbanci při 405 nm (podle uvážení použijte referenční vlnovou délku 620 nm). Vytvořené zbarvení je stabilní nejméně 60 minut.

## 10 Distribuční schéma

|          |                                |                 |                  |                    |                  |                  |          |                   |                |               |                    |                     |
|----------|--------------------------------|-----------------|------------------|--------------------|------------------|------------------|----------|-------------------|----------------|---------------|--------------------|---------------------|
| <b>A</b> | Standard<br>0,35 U/ml          | jehněčí<br>maso | sardinka         | camembert          | švestka          | banán            | okurka   | česnek            | čočka          | petržel       | Čaj černý          | hořčičné<br>semínko |
| <b>B</b> | Standard<br>0,70 U/ml          | hovězí<br>maso  | platýs           | parmezán           | hroznové<br>víno | datle            | paprika  | křen              | sójové<br>boby | maté          | pekařské<br>droždí | sezam               |
| <b>C</b> | Standard<br>3,5 U/ml           | vepřové<br>maso | tuňák            | rokfór             | jahoda           | kiwi             | chřest   | ředkvička         | hřiby          | kmín          | pohanka            | burský<br>ořech     |
| <b>D</b> | Standard<br>17,5 U/ml          | kuřecí<br>maso  | krevety          | vaječný<br>žloutek | malina           | medový<br>meloun | špenát   | celer             | květák         | pepř<br>černý | proso              | lískový<br>ořech    |
| <b>E</b> | Standard<br>50 U/ml            | krůtí<br>maso   | kasein           | vaječný<br>bílek   | grapefruit       | mango            | rajče    | cibule            | zelí<br>bílý   | tymián        | kukuřice           | kokosový<br>ořech   |
| <b>F</b> | Standard<br>100 U/ml           | treska          | kravské<br>mléko | jablko             | pomeranč         | broskev          | cuketa   | fazolky<br>zelené | bazalka        | skořice       | rýže               | mandle              |
| <b>G</b> | silně<br>pozitivní<br>kontrola | pstruh          | ovčí<br>mléko    | hruška             | citrón           | olivy            | mrkev    | fazole<br>červené | kari           | káva          | žitná<br>mouka     | pistácie            |
| <b>H</b> | slabě<br>pozitivní<br>kontrola | losos           | kozí<br>mléko    | třešeň             | ananas           | fenykl           | brambora | hrách             | kopr           | kakao         | pšeničná<br>mouka  | vlašský<br>ořech    |
|          | <b>1</b>                       | <b>2</b>        | <b>3</b>         | <b>4</b>           | <b>5</b>         | <b>6</b>         | <b>7</b> | <b>8</b>          | <b>9</b>       | <b>10</b>     | <b>11</b>          | <b>12</b>           |

## 11 Hodnocení výsledků

Vyhodnocení může být provedení v arbitrárních jednotkách (U/ml), nebo ve třídách.

**Tabulka 1 Orientační hodnoty absorbancí standardů a jejich zařazení do tříd**

|                    | Třída | Absorbance |
|--------------------|-------|------------|
| Standard 0,35 U/ml | 1     | 0,282      |
| Standard 0,7 U/ml  | 2     | 0,390      |
| Standard 3,5 U/ml  | 3     | 0,562      |
| Standard 17,5 U/ml | 4     | 0,923      |
| Standard 50 U/ml   | 5     | 1,374      |
| Standard 100 U/ml  | 6     | 2,108      |

### Poznámka

Výše uvedená tabulka (Tabulka 1) popisuje pouze příklad, který byl dosažen při určité teplotě a podmínkách prostředí. Popsané údaje tedy **nepředstavují referenční hodnoty**, kterých je možné dosáhnout stejným způsobem v jiných laboratořích.

### Kvantitativní hodnocení

Koncentrace protilátek ve standardech, které jsou obsaženy v soupravě IgG Screen Nutritional 88 ELISA, jsou definovány a vyjádřeny v arbitrárních jednotkách (U/ml). Tím je umožněno přesné a reprodukovatelné kvantitativní vyhodnocení. Zároveň jsou pak možné i následné kontroly daného pacienta. Hodnoty koncentrací standardů v těchto jednotkách jsou uvedeny na štítcích příslušných lahvíček.

Sestrojte kalibrační křivku tak, že na osu X vynesete koncentrace standardů a kontrol a v U/ml a na osu Y odpovídající absorbance. Propojením jednotlivých bodů vytvořte kalibrační křivku. Hladinu protilátek ve vzorcích (U/ml) stanovte odečtením těchto hodnot z kalibrační křivky. Také je možné využít automatické počítačové programy.

## 12 Charakteristika soupravy

Tabulka 2 Charakteristika soupravy

| IgG Screen Nutritional 88 ELISA | Vaječný bílek   | Kravné mléko   | Rajče         |
|---------------------------------|---|----------------|---------------|
| Intra-assay                     | 10,9 %  | 9,2 %          | 7,9 %         |
| Inter-assay                     | 8,0 až 11,6 %   | 15,5 až 17,4 % | 5,7 až 11,6 % |
| Inter-lot                       | 1,2 až 8,0 %  | 3,0 až 19,0 %  | 7,2 až 9,8 %  |
| Analytická citlivost            | 0,18 U/ml   | 0,10 U/ml      | 0,11 U/ml     |
| Výtěžnost                       | 101 až 109 %  | 89 až 102 %    | 90 až 97 %    |
| Linearita                       | 85 až 102 %   | 69 až 93 %     | 83 až 105 %   |
| Zkřížená reaktivita             | nebyla pozorována zkřížená reaktivita s IgE protilátkami až do titru 100.000 IU/ml  |                |               |
| Interference                    | nebyly zjištěny interference bilirubinu až do koncentrace 0,3 mg/ml, hemoglobinu až do 8,0 mg/ml a triglyceridů až do 5,0 mg/ml |                |               |
| Klinická specificita            | 85 %  | 100 %          | 78 %          |
| Klinická senzitivita            | 82 %  | 93 %           | 100 %         |

### 13 Literatura

1. Aas K: The diagnosis of hypersensitivity to ingested foods. *Clinical Allergy* 1978; 8:39-50.
2. AMA Council on Scientific Affairs, In Vitro Testing for Allergy. Report II of the Allergy Panel Council on Scientific Affairs. *JAMA*, 1987, 258(12):1639-43.
3. AMA Council on Scientific Affairs, In Vivo Diagnostic Testing and Immunotherapy for Allergy. Part I, *JAMA*, 1987, 258:1363-7.
4. Bleumink E: Food Allergy; the chemical nature of the substance eliciting symptoms. *World Reviews in Nutrition and Diet* 1970; 12:505-570.
5. Bübl, R. Schön, B., Rakoski, J.: Allergenspezifische IgG-Antikörper bei Atopikern; *Allergologie* 16, 7, 299-304 (1993).
6. Canadian Paediatric Society, Allergy Section. Blood Tests for Allergy in Children. *Can Med Assoc J*, 1990, 142(11):1207-8.
7. Cohen, G.A., Hartmann, G., Hamburger, R.N., O'Connor, R.D.: Severe anemia and chronic bronchitis associated with a markedly elevated specific IgG to cow's milk protein; *Annals of Allergy* 55, 38-40 (1985).
8. Devey, M.E., Wilson, D.V., Wheeler, A.W.: The IgG subclass of antibodies to grass pollen allergens produced in hay-fever patients during hyposensitization; *Clin. Allergy* 6, 227 (1976).
9. Durham, S.R., Lee, T.H., Cromwell, O., Shaw, R.J., Merret, T.G., Merret, J., Cooper, P, Kay, A.B.: Immunologic studies in allergen-induced late-phase asthmatic reactions; *J. Allergy Clin Immunol* 74, 49 (1984).
10. Djurup, R., Osterballe, O.: IgG subclass antibody response in grass pollen-allergic patients undergoing specific immunotherapy; *Allergy* 39, 433-441(1984).
11. Rowntree, S., Platt-Mills, T.A.E, Cogswell, J.J, Mitchell E.B.: A subclass IgG<sub>4</sub>-specific antigen-binding Radioimmunoassay (RIA): Comparison between IgG and IgG<sub>4</sub> antibodies to food and inhaled antigens in adult atopic dermatitis after desensitization treatment and during development of antibody responses in children; *J. Allergy Clin. Immunol* 80, 622-630 (1987).
12. Shakib, F., McLaughlan, P., Stanworth, D.R., Smith, E., Fairburn, E.: Elevated serum IgG and IgG<sub>4</sub> in patients with atopic dermatitis; *Br. J. Derm:* 97, 59-63 (1977).
13. Wojdani, A., Etesami, S., Cheung, G.P.: IgG is not the only inhibitor of IgE in the RAST test; *Annals of Allergy* 55, 463-468 (1985).
14. Wüthrich, Brunello: Neurodermitis atopica (atopische Dermatitis) in Fuchs/Schulz, *Manuale Allergologicum* V, 14, 21-22.












**Poznámky**

**Poznámky**

**Poznámky**

## 14 Schéma testu

### IgG Screen Nutritional 88 ELISA

| Krok | Symbol  | Jednotlivé kroky testu   |
|------|---|--|
| 1    |    | Ředění vzorků<br>séra/plazmy 1:101   |
| 2    |    | Dávkování <ul style="list-style-type: none"> <li>• standardů a kontrol (v pracovním ředění)</li> <li>• ředěného vzorku 100 µl</li> </ul> |
| 3    |    | Inkubace 60 min při 37 °C  |
| 5    |    | Odsátí a promytí jamek 3 × 300 µl promývacím roztokem<br>(ředěný 1:10)   |
| 6    |   | Dávkování Konjugátu 100 µl (v pracovním ředění)  |
| 7    |  | Inkubace 30 min při 37 °C  |
| 8    |  | Odsátí a promytí jamek 3 × 300 µl promývacím roztokem  |
| 9    |  | Dávkování Substrátu 100 µl (PNPP, v pracovním ředění)  |
| 10   |  | Inkubace 60 min při 37 °C  |
| 11   |  | Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl (NaOH, v pracovním ředění)  |
| 12   |  | Fotometrické měření při 405 (alternativně 620 až 630) nm   |

Souprava je distribuována společností TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.

V případě dotazů nás kontaktujte.

Tel: +420 541 248 311

Email: info@testlinecd.cz