

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного определения  
концентрации человеческого  
интерлейкина-10  
в биологических жидкостях человека  
и культуральных средах

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

**ИНТЕРЛЕЙКИН-10 – ИФА – БЕСТ**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**A-8774**



## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения человеческого ИЛ-10 в биологических жидкостях человека и культуральных средах.

Интерлейкин-10 (ИЛ-10) представляет собой димер с молекулярной массой 36 kDa, состоящий из двух полипептидных цепей, по 160 аминокислот каждая и является ключевым регулятором иммунного ответа. ИЛ-10 экспрессируется активированными Т-хелперами- II типа, моноцитами/макрофагами, тучными клетками и кератиноцитами. Продукция ИЛ-10 регулируется другими цитокинами: стимулируется ИЛ-4, ИЛ-13; ИНФ- $\gamma$  ингибирует выработку ИЛ-10 в моноцитах, активированных ЛПС; ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-15, ФНО- $\alpha$  и ИНФ- $\alpha$ , напротив, индуцируют синтез ИЛ-10 в моноцитах, Т-, В, НК- и тучных клетках.

ИЛ-10 обладает мощным противовоспалительным, иммуномодулирующим, иммуносупрессивным эффектом. Главная роль ИЛ-10 – это ингибирование избыточного синтеза провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ФНО- $\alpha$ , GM-CSF, ИНФ- $\gamma$  активированными макрофагами и Т-хелперами I типа. В то же время ИЛ-10 повышает активность Т-хелперов II типа и синтез продуцируемых ими цитокинов – ИЛ-4, ИЛ-10, т.е. вызывает изменение иммунного ответа с TH1 на TH2. ИЛ-10 об-

ладает ауторегуляторной активностью и сильно ингибирует синтез ИЛ-10 мРНК.

Благодаря потенциальным иммуносупрессивным и противовоспалительным свойствам и благодаря широко распространенной экспрессии во многих типах клеток, ИЛ-10, по-видимому, играет важную роль при многих болезнях, включая воспаление, аутоиммунность, ангиогенез и отторжение трансплантата. ИЛ-10 играет важную роль в патогенезе рака: с одной стороны, при избыточной продукции ИЛ-10 повышается вероятность возникновения опухолей (иммуносупрессорные свойства); с другой стороны, ИЛ-10 ингибирует ангиогенез, угнетая продукцию макрофагальных ангиогенных факторов, таких как ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и матричной металлопротеиназы-9, и, следовательно, рост опухоли и метастазирование. ИЛ-10 может ингибировать антимикробный ответ на ранних стадиях воспаления, однако защищает организм от гипервоспаления и повреждения тканей, вызванных механизмами защиты от инфекции. Этот цитокин подавляет аллергическое воспаление путем ингибирования экспрессии провоспалительных цитокинов, хемокинов и энзимов-медиаторов воспаления. При аллергических заболеваниях, таких как астма и ринит, наблюдается недостаточная продукция ИЛ-10, зависящая от серьезности болезни.

Повышенные уровни экспрессии ИЛ-10 ассоциированы с некоторыми болезнями, такими

как сепсис, бактериальный менингит, малярия, ревматоидный артрит, лепроматозная лепра, индийский висцеральный лейшманиоз и лимфатический филяриатоз. Высокий уровень ИЛ-10 в 1-е сутки ишемического инсульта может свидетельствовать о благоприятном течении и исходе заболевания. Наоборот, низкий сывороточный уровень ИЛ-10 как в начальный период, так и в динамике заболевания, позволяет прогнозировать неблагоприятное течение инсульта, значительную инвалидизацию или летальный исход. При сепсисе высокие концентрации ИЛ-10 связаны с неблагоприятным прогнозом. Отмечено, что у больных с хронической почечной недостаточностью продукция ИЛ-10 выше, чем в группе здоровых лиц, что свидетельствует об активации хелперов II типа.

Содержание ИЛ-10 в сыворотке крови здоровых доноров не превышает 20 пг/мл.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

### 2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения основан на твердофазном «сэндвич»-варианте иммуноферментного анализа. Специфическими реагентами набора являются моноклональные антитела к ИЛ-10, сорбированные на поверхности лунок разборного полистирольного планшета, конъюгат поликлональных антител к ИЛ-10 с биотином и калибровочные образцы, содержащие ИЛ-10.

На первой стадии анализа, исследуемые и контрольные образцы, инкубируют в лунках с иммобилизованными антителами. Имеющийся в образцах ИЛ-10 связывается с иммобилизованными антителами. Несвязавшийся материал удаляется отмывкой. Связавшийся ИЛ-10 взаимодействует при инкубации с конъюгатом №1 (антитела к ИЛ-10 человека с биотином). Несвязавшийся конъюгат №1 удаляется отмывкой. На третьей стадии связавшийся конъюгат №1 взаимодействует при инкубации с конъюгатом №2 (стрептавидин с пероксидазой хрена). После третьей отмывки количество связавшегося конъюгата №2 определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидаина. Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна концентрации содержащегося в образце ИЛ-10 .

Набор реагентов рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Для исследования небольших партий проб (от 1 исследуемой пробы до 89) предусмотрено проведение 6 независимых постановок ИФА.

Комплектуется всеми необходимыми реагентами для проведения ИФА, кроме дистиллированной воды.

Диапазон измеряемых концентраций 0–500 пг/мл, чувствительность анализа – 1 пг/мл.

## 2.2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованными моноклональными антителами к ИЛ-10 – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие ИЛ-10 (0, 5, 20, 50, 200 и 500 пг/мл) – 6 фл.;
- контрольный образец, содержащий ИЛ-10, концентрация указана на флаконе – 1 фл.;
- конъюгат №1 – биотинилированные антитела к ИЛ-10 – 1 фл.;
- конъюгат №2 – стрептавидин-пероксидаза хрена – 1 фл.;
- раствор для разведения образцов (РРО) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для предварительного разведения конъюгата №2 (РПК2) – 1 фл., 1 мл;
- раствор для разведения конъюгата №2 (РПК2) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 2 фл. по 28 мл;

- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ) – 1 фл., 1 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- пленка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 4 шт.;
- наконечники для пипеток – 32 шт.;
- трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.

### 2.3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**Специфичность.** Не обнаружено перекрестной реакции моноклональных антител к ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-18, ИЛ-17, ИНФ-гамма, ИЛ-8, ФНО-альфа, ИНФ-альфа, рецепторному антагонисту ИЛ-1, ИЛ-1бета.

**Воспроизводимость.** Коэффициент вариации результатов определения содержания ИЛ-10 в одном и том же образце с использованием набора «ИНТЕРЛЕЙКИН-10 – ИФА – БЕСТ» не превышает 8%.

**Линейность.** Отклонение от расчетной величины концентрации ИЛ-10 в образцах биологических жидкостях человека и культуральных средах при разведении их РРО не превышает 10% в диапазоне концентраций 5–500 пг/мл.

**Точность.** Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» ИЛ-10 – соответствие измеренной концентрации ИЛ-10

предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца 20 пг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110 %.

**Чувствительность.** Минимальная достоверно определяемая набором концентрация ИЛ-10 не превышает 1 пг/мл.

**Клиническая проверка.** Концентрацию ИЛ-10 измеряли в сыворотке (плазме) крови, взятой с 9 до 11 ч, у 110 здоровых лиц юго-восточного региона Западной Сибири в возрасте 20–50 лет. Средняя концентрация ИЛ-10 составила 5 пг/мл, при этом у 105 доноров концентрация ИЛ-10 находится в диапазоне 0–20 пг/мл, у 5 доноров – в диапазоне 20–31 пг/мл.

Для проверки работы набора с клеточными супернатантами у здоровых доноров утром натощак забирали кровь из локтевой вены в пробирки с гепарином натрия, разводили в 5 раз полной средой RPMI 1640, культивировали 24 часа при стимуляции 10 мкг/мл ФГА и без стимуляции. Концентрации ИЛ-10 составили: (7–130) пг/мл при стимуляции и (0–50) пг/мл без стимуляции. Уровни спонтанной и ФГА индуцированной продукции цитокинов клетками цельной крови и в сыворотке условно здоровых доноров приведены в таблице №2.

### **3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

**3.1.** Все компоненты набора являются не-токсичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. *В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.*

**3.2.** При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарноэпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

**3.3.** При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

**3.4.** Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

**3.5.** Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

**3.6.** Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор ( $H_2O_2$ , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

#### **4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм; 620–655 нм.
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  и 700 об/мин.
- устройство для промывки планшет.
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 20, 50, 100, 250 и 1000 мкл.
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости 100, 250 мкл.
- флаконы стеклянные вместимостью 10–15 мл.
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл.
- колба вместимостью 1000 мл.
- вода дистиллированная.
- перчатки резиновые или пластиковые.
- бумага фильтровальная лабораторная.

#### **5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

**5.1.** В качестве исследуемых образцов использовать сыворотку, плазму крови или другие биологические жидкости, а также культуральные супернатанты. Для анализа требуется 100 мкл образца.

**5.2.** Для определения концентрации ИЛ-10 возможно использование образцов как свежее-

приготовленных, так и хранившихся не более 3 мес. при температуре не выше минус 16°C. Допускается хранение до 1 года при температуре не выше минус 40°C. Избегайте повторных циклов заморозки и оттаивания.

**5.3.** Образцы сывороток и плазмы сильно гемолизированные, сильно липемичные или мутные могут давать недостоверные результаты. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10–15 минут при 3000 об/мин.

**5.4.** Перед постановкой анализа исследуемые образцы должны быть извлечены из холодильника и прогреты при температуре 18–25°C в течение 30 мин. Замороженные образцы должны быть быстро разморожены и обязательно тщательно перемешаны до однородной консистенции.

**5.5.** Образцы сывороток крови, содержащие осадок или взвесь эритроцитов, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10–15 минут при 3000 об/мин.

**5.6.** От соблюдения этих требований зависит точность и воспроизводимость результатов анализа.

## 6. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

### 6.1. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ НАБОРА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты набора, в том числе и запечатанный пакет с планшетом, при температуре от 18 до 25°C не менее 30 мин.

### 6.2. ПРАВИЛА РАБОТЫ

#### ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

**6.2.1.** Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

**6.2.2.** После первого вскрытия и отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение 4 недель, но в пределах срока годности набора.

### 6.3. ПОДГОТОВКА СТРИПОВ

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

*Хранение: при температуре от 2 до 8°C в течение 4 недель.*

Таблица 1

Кол-во одновременно используемых стрипов	Раствор 1		Рабочий раствор конъюгата № 1		Рабочий раствор конъюгата № 2		Раствор тетраметилбензидаина	
	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл	Конъюгат №1, концентрат, мкл	Раствор 1, мл	Конъюгат №2, концентрат, мкл	РРК2, мл	ТМБ, концентрат, мкл	СБР, мл
1	2,0	48	50	1,0	50	1,0	70	1,0
2	4,0	96	100	2,0	100	2,0	140	2,0
3	6,0	144	150	3,0	150	3,0	210	3,0
4	8,0	192	200	4,0	200	4,0	280	4,0
5	10	240	250	5,0	250	5,0	350	5,0
6	12,0	288	300	6,0	300	6,0	420	6,0
7	14,0	336	350	7,0	350	7,0	490	7,0
8	16,0	384	400	8,0	400	8,0	560	8,0
9	18,0	432	450	9,0	450	9,0	630	9,0
10	20,0	480	500	10,0	500	10,0	700	10,0
11	22,0	528	550	11,0	550	11,0	770	11,0
12	24,0	576	600	12,0	600	12,0	840	12,0

#### 6.4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРА 1

Количество концентрата ФСБ-Т и дистиллированной воды для приготовления раствора 1, в зависимости от числа стрипов, приведено в таблице 1. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при 30–40°C до полного растворения осадка.

*Хранение: при 2–8°C в течение 5 суток.*

### 6.5. ПОДГОТОВКА КАЛИБРОВОЧНЫХ И КОНТРОЛЬНОГО ОБРАЗЦОВ, КОНЦЕНТРАТА КОНЪЮГАТА №1

Калибровочные и контрольный образцы, конъюгат №1 восстановить в 0,7 мл раствора 1 (п. 6.4.). Выдержать до полного растворения содержимого, тщательно перемешивая.

Хранение: при 2–8°C в течение 4 недель.

### 6.6. ПОДГОТОВКА КОНЦЕНТРАТА КОНЪЮГАТА №2

Конъюгат №2 восстановить в 0,7 мл РПРК2. Выдержать до полного растворения содержимого, тщательно перемешивая.

Хранение: при 2–8°C в течение 4 недель.

### 6.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЪЮГАТА №1

*Готовить за 10–15 минут до окончания первой инкубации!*

При проведении реакции на 1 стрипе в чистый флакон внести 1,0 мл раствора 1 (п. 6.4.), добавить 50 мкл концентрата конъюгата №1, тщательно перемешать (см. таблицу №1).

Хранение: при 18–25 °C не более 3 часов.

### 6.8. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЪЮГАТА №2

*Готовить за 10–15 минут до окончания второй инкубации!*

При проведении реакции на 1 стрипе в чистый флакон внести 1,0 мл РРК2, добавить

50 мкл концентрата конъюгата №2, тщательно перемешать (см. таблицу №1).

Хранение: при 18–25 °С не более 3 часов.

#### 6.9. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРА ТМБ

**Внимание!** Рекомендуется выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбензидином. Посуду и наконечники для пипетки, контактирующие с раствором ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду и наконечники ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу № 1) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество СБР, добавить соответствующее количество концентрата ТМБ, тщательно перемешать.

Хранение: не более 3 часов при 18–25°С в темноте.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

### 7.1. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ

Приготовить раствор 1 (п. 6.4.), калибровочные и контрольный образцы (п. 6.5.), концентрированные растворы конъюгатов №1 и №2 (п. 6.5., 6.6.).

Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать (п. 6.3.).

**Внимание!** *Обязательно соблюдайте требования для подготовки исследуемых образцов (п. 5.).*

### 7.2. ВНЕСЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНЫХ, КОНТРОЛЬНОГО И АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ, ИНКУБАЦИЯ

Внести во все лунки по 100 мкл раствора для разведения образцов.

В лунки А-1, В-1, С-1, D-1, Е-1, F-1, G-1 внести по 100 мкл калибровочных и контрольного образцов, в остальные – по 100 мкл исследуемых проб. Отрезать лишнюю пленку требуемого размера.

Стрипы закрыть, плотно прижав пленку, поместить в шейкер. Инкубировать 120 мин при температуре 37°C при 700 об/мин.

По окончании инкубации снять лишнюю пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть лунки планшета 5 раз раствором 1 (п. 6.4.). При этом в каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидко-

сти в процессе одного промывания. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

**Внимание!** *Плохая промывка может привести к недостоверным результатам!*

За 10 мин до окончания инкубации приготовить рабочий раствор конъюгата №1 (п. 6.7.).

### 7.3. ВНЕСЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЪЮГАТА №1, ИНКУБАЦИЯ

**Внимание!** *Для внесения рабочего раствора конъюгата №1 рекомендуем использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

В каждую лунку стрипов внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №1.

Стрипы закрыть пленкой, поместить в шейкер. Инкубировать 60 мин при температуре 37°C, предпочтительно при 700 об/мин.

За 10 мин до окончания инкубации приготовить рабочий раствор конъюгата №2 (п. 6.8.).

### 7.4. ОТМЫВКА ОТ КОНЪЮГАТА №1

По окончании инкубации лунки стрипов промывают 5 раз как описано в п. 7.2.

#### 7.5. ВНЕСЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЪЮГАТА №2, ИНКУБАЦИЯ

**Внимание!** *Для внесения рабочего раствора конъюгата №2 рекомендуем использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

В каждую лунку стрипов внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №2.

Стрипы закрыть пленкой, поместить в шейкер. Инкубировать 30 мин при температуре 37°C, предпочтительно при 700 об/мин.

За 10 мин до окончания инкубации приготовить раствор ТМБ (п. 6.9.).

#### 7.6. ОТМЫВКА ОТ КОНЪЮГАТА №2

По окончании инкубации стрипы промывают 5 раз как описано в п. 7.2.

#### 7.7. ВНЕСЕНИЕ РАСТВОРА ТМБ, ИНКУБАЦИЯ

**Внимание!** *Для внесения раствора ТМБ использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.*

Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать в темноте в течение 25 мин при температуре 18–25°C.

#### 7.8. ОСТАНОВКА РЕАКЦИИ

Реакцию остановить добавлением в каждую лунку по 100 мкл стоп-реагента.

**Внимание!** Следует избегать попадания стоп-реактента на открытые участки тела и одежду. При попадании – промыть большим количеством воды.

## **8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Результаты ИФА регистрируют с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

## **9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ**

Для определения концентрации ИЛ-10 в исследуемых пробах необходимо построить калибровочную кривую (график) в координатах: ось абсцисс – концентрация ИЛ-10 (пг/мл); ось ординат – значение оптической плотности образца.

Для этого значение оптической плотности (ОП), соответствующее концентрации ИЛ-10 в каждом калибровочном образце, откладывают на миллиметровой бумаге или прилагаемом трафарете. По полученным точкам проводят калибровочную кривую.

Для определения концентрации ИЛ-10 в анализируемых пробах на оси ординат отмеча-

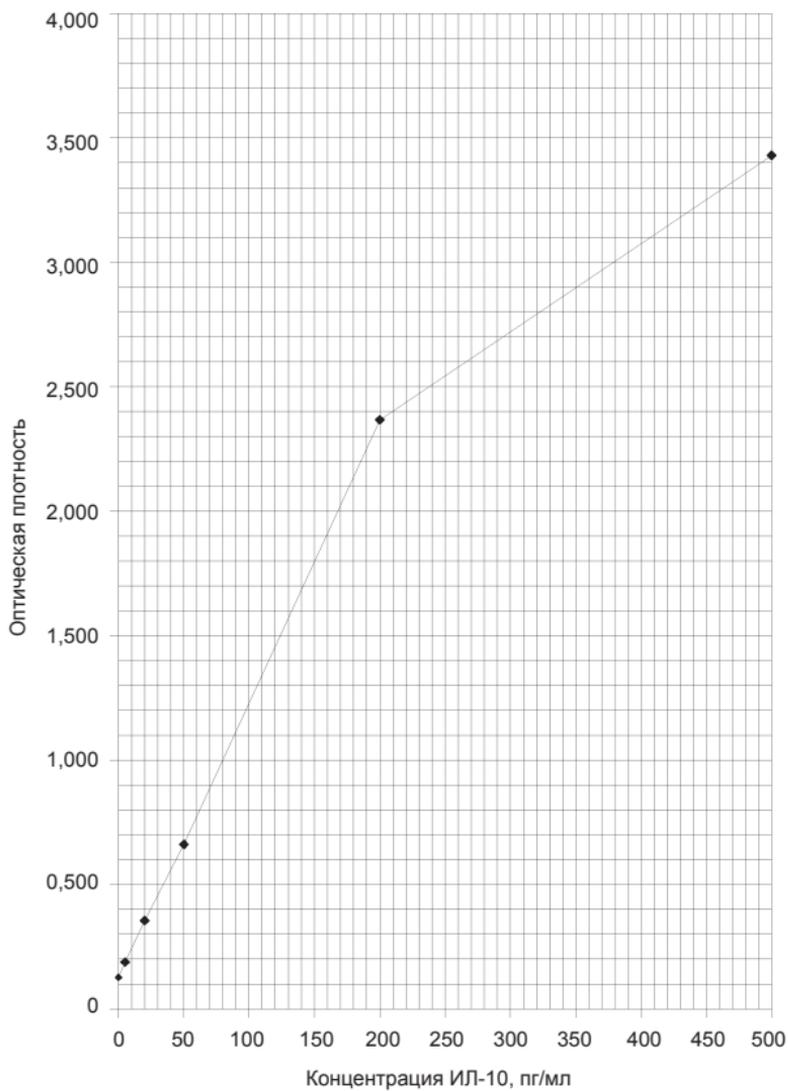
ют значение оптической плотности анализируемого образца. Проводят прямую до пересечения с калибровочной кривой, от полученной точки пересечения опускают перпендикуляр на ось абсцисс. Точка пересечения и является искомым значением концентрации ИЛ-10.

Образцы с содержанием ИЛ-10 в пробе, превышающим 500 пг/мл, следует развести в 20 раз раствором для разведения образцов (РРО) и повторить анализ еще раз.

Контрольный образец служит для проверки точности и достоверности результатов. Если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации ИЛ-10 в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке, полученные величины концентраций ИЛ-10 в образцах считают достоверными. Концентрация ИЛ-10 в сыворотках здоровых доноров находится в диапазоне 0 – 20 пг/мл, среднее 5,0 пг/мл.

Пример калибровочной кривой представлен на рисунке.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации ИЛ-10 в биологических жидкостях человека, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).



**Рисунок**

Таблица №2.  
**Уровни спонтанной и ФГА индуцированной продукции цитокинов клетками цельной крови и в сыворотке условно здоровых доноров (n = 68, \*n=31).**

цитокины	спонтанная		ФГА индуцированная		сыворотки	
	Среднее пг/мл	Диапазон пг/мл	Среднее пг/мл	Диапазон пг/мл	Среднее пг/мл	Диапазон пг/мл
ИНФ-α	1	0-6	3	0-13	0	0-5
ИЛ-4	0	0-2,4	0,24	0-24	0,2	0-4
ИНФ-γ	4	0-14	1200	165-7450	2	0-10
ИЛ-1β	50	0-107	440	50-1200	1,6	0-11
ИЛ-1РА	450	20-1740	1700	67-7450	520	50-1000
ИЛ-18	50	23-115	50	12-120	370	104-650
ИЛ-6	12	0-90	8500	100-30700	2	0-10
ФНО-α	5	1-42	1150	391-2700	0,5	0-6
ИЛ-8	2200	24-4380	16900	550-82000	2	0-10
ИЛ-10	6	0-50	40	7-130	5	0-31
ИЛ-2	0,3	0-10	155	25-590	0	0-10
ИЛ-17*	2,4	1-10	422	70-1500	1,2	0-5

## **10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА**

**10.1.** Набор реагентов «ИНТЕРЛЕЙКИН-10 – ИФА – БЕСТ» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2–8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток. Не допускать замораживания.

Срок годности – 18 мес. со дня выпуска.

**10.2.** Дробное использование набора может быть реализовано не позднее 4 недель с момента проведения первого иммуноферментного анализа, но в пределах срока годности. В случае дробного использования набора построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента; а также рекомендуется определять концентрацию ИЛ-10 в контрольном образце.

**10.3.** Не допускать высыхания лунок планшета между отдельными операциями.

**10.4.** При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, СБР, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».

**10.5.** *Запрещается использовать компоненты из наборов других серий или других фирм-производителей.*

**10.6.** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

**По вопросам, касающимся качества наборов,  
обращаться**

**в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:**

630559, Новосибирская обл.,  
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,  
тел. (383) 336-73-46,  
тел./факс (383) 332-67-49,  
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

**За справками и консультацией обращаться:**

**в лабораторию цитокинов,**

тел. (383) 227-75-47

20.08.10.

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО  
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086  
на производство, хранение и реализацию  
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ  
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ  
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D  
Инфекции, передаваемые  
половым путем  
ВИЧ-инфекция  
TORCH-инфекции  
Клещевой энцефалит  
Паразитарные болезни  
Диагностика беременности  
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество  
и точный результат  
для Вашей лаборатории!***

**Наш адрес:** 630117, Новосибирск-117, а/я 492  
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)  
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,  
332-67-49, 332-67-52  
*E-mail:* [vbmarket@vector-best.ru](mailto:vbmarket@vector-best.ru)  
Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)