

ВЕКТОР



Набор реагентов  
для иммуноферментного  
количественного определения  
аутоантител класса А  
к тканевой трансглутаминазе

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

---

---

**IgA-трансглутаминаза –  
ИФА – Бест**

НАБОР РЕАГЕНТОВ  
**D-3758**

Набор реагентов «IgA-трансглутаминаза – ИФА – Бест» представляет собой набор, основным реагентом которого является высокоочищенная тканевая трансглутаминаза, выделенная из печени морской свинки, сорбированная в качестве антигена на поверхности лунок разборного полистиролового планшета.

Основным свойством набора является способность выявлять в сыворотке или плазме крови человека специфические иммуноглобулины класса А к тканевой трансглутаминазе (tTG) за счёт их взаимодействия с tTG, иммобилизованной на поверхности лунок разборного планшета (*стрипов*) в качестве антигена.

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контроли. Возможны 6 независимых постановок ИФА.

Набор комплектуют всеми необходимыми реагентами, кроме дистиллированной воды.

Набор не содержит материалов, которые могут инфицировать персонал в процессе анализа.

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «IgA-трансглутаминаза – ИФА – Бест» предназначен для количественного определения аутоантител класса А к тканевой трансглутаминазе в сыворотке (плазме) крови человека в клинических, диагностических и научно-исследовательских лабораториях.

Полученные результаты могут быть использованы:

- в комплексной дифференциальной диагностике целиакии;
- для мониторинга эффективности аглютенной диеты;
- для эпидемиологических исследований.

## 2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный с иммобилизованной тканевой трансглутаминазой – 1 шт.;
- калибровочные пробы, содержащие 0, 5, 10, 20, 100 Ед/мл антител класса А к тканевой трансглутаминазе, готовые для использования – по 1 фл. каждой (1,5 мл);
- контрольная сыворотка (КС) с известной концентрацией IgA к тканевой трансглутаминазе, готова для использования – 1 фл. (1,5 мл);
- конъюгат (антитела к IgA человека, меченные пероксидазой хрена) – 1 фл.;
- раствор для предварительного разведения (РПР, прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 3 мл;
- концентрат раствора для разведения сывороток (РС×5, жидкость малинового цвета) – 1 фл., 25 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РК, жидкость зелёного цвета) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 фл., 1,5 мл;
- стоп-реагент – 1 фл., 12 мл;
- плёнка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- пластиковая ёмкость – 2 шт.;
- одноразовые наконечники – 16 шт.;
- калибровочный график – 1 шт.;
- бланк диагностики – 1 шт.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. **Воспроизводимость.** Коэффициент вариации результатов определения IgA к tTG в одном и том же образце с использованием набора «IgA-трансглутаминаза – ИФА – Бест» не превышает 8%.

3.2. **Линейность.** Зависимость концентрации IgA к tTG в образцах сыворотки (*плазмы*) крови при разведении их сывороткой (*плазмой*) крови, не содержащей IgA к tTG, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5-100 ЕД/мл и составляет 90-110%.

3.3. **Точность.** Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» IgA к tTG – соответствие измеренной концентрации IgA к tTG предписанной в пробе, полученной путём смешивания равных объёмов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0 ЕД/мл. Процент «открытия» составляет 90-110%.

3.4. **Чувствительность.** Достоверно определяемая набором концентрация IgA к tTG не менее 2,5 ЕД/мл.

### 4. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- \* работать в резиновых перчатках;
- \* не пипетировать растворы ртом;
- \* все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113.

**Внимание!** Тщательное соблюдение описанных ниже требований позволит избежать искажения результатов ИФА.

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объёмов не более 5%.
- Желательно использовать свежееотобранные образцы сыворотки (*плазмы*) крови. Допускается использование образцов, хранившихся при (2-8)°С не более 5 суток, либо при минус (20±3)°С, если необходимо более длительное хранение.
- Сыворотки, содержащие взвешенные частицы, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10-15 мин при 3000 об/мин.
- Нельзя использовать проросшие, гемолизи-

рованные, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.

- Перед постановкой реакции все компоненты набора необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре (18-25)°С.
- Лиофилизированные компоненты должны быть восстановлены, как минимум, за 15 минут до их использования.
- После отбора необходимого количества стрипов оставшиеся сразу упаковать в пакет с осушителем. Упакованные стрипы, плотно закрытые флаконы с исходными компонентами сразу после постановки реакции поместить в холодильник (2-8)°С.
- Растворы ТМБ и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор ТМБ.
- При промывке лунки (*стрипа, планшета*) заполнять полностью, не допуская переливания промывочного раствора через края лунок, и не касаясь лунок наконечником пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек.
- При использовании автоматического или ручного промывателя необходимо следить за состоянием ёмкости для промывочного раствора

и соединительных шлангов: в них не должно быть «заростов». Раз в неделю желательно ёмкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.

- Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (*ФСБ-Т×25, СБР, концентрат ТМБ, стоп-реагент*), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».
- Запрещается повторное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.
- При приготовлении растворов и проведении ИФА следует использовать одноразовые наконечники для дозаторов.
- Посуду (*ванночки*), используемые для работы с растворами конъюгата и ТМБ, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами.
- В случае повторного использования посуду (*ванночки*) для раствора конъюгата промыть проточной водой и тщательно ополоснуть дистиллированной водой; посуду (*ванночки*) для раствора ТМБ сразу после работы промыть

50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой.

- Для дезинфекции посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, 2,5% раствор велголена (*МУ-231-113 от 29.10.98*).
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать во время проведения ИФА перекись водорода, хлорамин и т.д.

#### 4.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

##### 4.1.1. Промывочный раствор

Взболтать содержимое флакона с ФСБ-Т×25. При выпадении осадка солей в концентрате прогреть его перед использованием до полного растворения осадка.

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество ФСБ-Т×25 (*см. таблицу, стр. 12*) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объема.

Хранение: при (2-8)°С до 72 ч.

##### 4.1.2. Раствор для разведения сывороток

В соответствии с числом используемых стрипов отобрать необходимое количество РС×5 (*см. таблицу, стр. 12*) и развести его дистиллированной водой до указанного в таблице объема.

Хранение: при (2-8)°С в течение 72 ч.

*Оставшийся РС×5 тщательно укупорить и хранить при (2-8)°С до 1 месяца.*

##### 4.1.3. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка

Калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию и не требуют разведений.

Хранение: *после отбора части содержимого тщательно укупоренные флаконы хранят при (2-8)°С до 1 месяца.*

Таблица расхода реагентов

	Количество используемых стрипов													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
	Промывочный раствор													
ФСБ-Т×25, мл				4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Дистиллированная вода, мл	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 600	до 650	до 700	до 750
	Раствор для разведения сывороток													
РС×5, мл			4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	
Дистиллированная вода, мл	до 20	до 30	до 40	до 50	до 60	до 70	до 80	до 90	до 100	до 110	до 120	до 130	до 140	до 150
	Раствор конъюгата в рабочем разведении													
Конъюгат (концентрат), мкл		2×α	3×α	4×α	5×α	6×α	7×α	8×α	9×α	10×α	11×α	12×α		
РК, мл		2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0		
	Раствор ТМБ в рабочем разведении													
ТМБ (концентрат), мкл		100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600		
СБР, мл		2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0		

\* α = ▲ ▲ ▲ мкл

#### 4.1.4. Исследуемые образцы

Все пробы сыворотки (*плазмы*) должны быть разведены 1:100 раствором для разведения сывороток. В чистые пластиковые пробирки (*по количеству обследуемых проб*) внести по **1000 мкл раствора для разведения сывороток**. Сыворотку или плазму пациента тщательно перемешать, отобрать **10 мкл**, внести в подготовленную пробирку с раствором для разведения сывороток и снова тщательно перемешать.

*Хранение:* разведённые сыворотки при (2-8)°C до 8 часов.

#### 4.1.5. Раствор конъюгата

**Внимание!** Для работы с конъюгатом рекомендуем использовать одноразовые наколочки для пипеток.

Приготовить **концентрированный раствор конъюгата** путём растворения содержимого флакона с конъюгатом в 1 мл РПР.

*Хранение:* концентрированный раствор конъюгата – при (2-8)°C до 1 месяца.

**Внимание!** Раствор конъюгата в рабочем разведении готовить в пластиковой ванночке непосредственно перед использованием!

Раствор для разведения конъюгата (РК) тщательно взболтать.

В пластиковую ванночку отобрать необходи-

мое количество концентрированного раствора конъюгата, добавить соответствующее количество РК (см. таблицу), тщательно перемешать пипетированием.

*Конъюгат в рабочем разведении хранению не подлежит.*

#### **4.1.6. Раствор ТМБ в рабочем разведении**

**Внимание!** Раствор ТМБ готовить в пластиковой ванночке, входящей в состав набора, непосредственно перед использованием!

Рекомендуем выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с ТМБ.

В пластиковую ванночку отобрать необходимое количество ТМБ (см. таблицу) и добавить к нему соответствующее количество СБР, тщательно перемешать.

*Раствор стабилен до 3-х ч в защищённом от света месте при (18-25)°С.*

## **4.2. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА**

4.2.1. Подготовить необходимое количество стрипов к работе. Оставшиеся – сразу упаковать во избежание губительного воздействия влаги. Для этого стрипы поместить в целфеновый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застежкой. Упакованные таким образом стрипы хранить при (2-8)°С до 1 месяца.

Приготовить промывочный раствор (п. 4.1.1), раствор для разведения сывороток (п. 4.1.2), разведённые образцы сывороток (п. 4.1.4) и концентрированный раствор конъюгата (п. 4.1.5).

4.2.2. В лунки стрипов внести по **100 мкл** калибровочных проб, контрольной сыворотки и разведенных (1:100) образцов исследуемых сывороток, тщательно перемешивая каждую пробу образца перед внесением.

Рекомендуется следующая схема постановки:

	1	2	3	4	5	6
A	0	0	C <sub>3</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>11</sub>	C <sub>11</sub>
B	5	5	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>12</sub>
C	10	10	C <sub>5</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>13</sub>	C <sub>13</sub>
D	20	20	C <sub>6</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>14</sub>
E	100	100	C <sub>7</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>15</sub>
F	КС	КС	C <sub>8</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>16</sub>
G	C <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>9</sub>	C <sub>9</sub>	C <sub>17</sub>	C <sub>17</sub>
H	C <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18</sub>



Лунки заклеить клейкой плёнкой и инкубировать при комнатной температуре (18-25)°С в течение 30 мин.

За 5 минут до окончания инкубации приготовить раствор конъюгата в рабочем разведении (п. 4.1.5).

4.2.3. По окончании инкубации содержимое лунок слить в сосуд с дезинфицирующим раствором, промыть лунки стрипов 5 раз промывочным раствором и тщательно удалить влагу из лунок, постукивая перевёрнутыми стрипами по сложенной в несколько слоёв фильтровальной бумаге. Не допускать высыхания лунок между отдельными операциями при постановке реакции.

**Внимание!** Каждую лунку при промывке необходимо заполнять полностью (**400 мкл промывочного раствора**). Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. Время между заполнением и опорожением лунок должно быть не менее 30 сек.

4.2.4. Во все лунки внести по **100 мкл раствора конъюгата в рабочем разведении**.

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

Лунки заклеить клейкой плёнкой и инку-

бировать 30 мин при комнатной температуре (18-25)°С.

4.2.5. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз промывочным раствором и удалить влагу, как описано выше

4.2.6. Приготовить раствор ТМБ в рабочем разведении (п. 4.1.6).

Во все лунки внести по **100 мкл раствора ТМБ**.

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

Стрипы поместить на 30 мин в защищённое от света место при (18-25)°С.

4.2.7. Реакцию остановить добавлением в каждую лунку по **100 мкл стоп-реагента** и немедленно измерить оптическую плотность (ОП).

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

## 5. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-650 нм. Допустима регистрация результатов только с фильтром 450 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

По результатам измерения вычислить средние арифметические значения ОП для дубликатов калибровочных проб. Построить калибровочный график на прилагаемом к набору бланке в координатах: ось абсцисс – концентрация IgA-антител к tTG (*Ед/мл, указана на флаконах с калибровочными пробами*), ось ординат – оптическая плотность. Для этого полученные усредненные значения ОП для калибровочных проб 0-100 Ед/мл наносят на бланк и последовательно соединяют точки отрезками прямой.

По построенной таким образом калибровочной кривой определить концентрацию антител в исследуемых образцах пациентов.

Построенная калибровочная кривая пригодна для определения концентрации антител к tTG только в тех образцах, анализ которых проводился одновременно с калибровочными пробами.

Контрольная сыворотка служит для проверки

достоверности результатов анализа. Измеренное значение концентрации tTG-IgA в контрольной сыворотке не должно выходить за пределы значений, указанные на этикетке флакона.

Если концентрация tTG-IgA в исследуемом образце превышает 100 Ед/мл, образец следует развести в 5 раз раствором для разведения сывороток, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

### 5.1. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Концентрация IgA-антител к tTG в калибровочных пробах и в контрольной сыворотке дана в относительных единицах. При калибровке набора использован набор реагентов «**Anti-Tissue-Transglutaminase IgA**» фирмы ORGENTEC.

Образцы с концентрацией меньше 10 Ед/мл являются отрицательными.

Образцы с концентрацией равной 10 Ед/мл и больше являются положительными.

Простой серологический тест не может быть использован для постановки диагноза. Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.

Проросшие и гиперлипидные сыворотки могут давать ошибочные результаты.

## 6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Набор хранить и транспортировать при (2-8)°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С в течение 3-х суток. Не допускать замораживания.

Срок годности набора – 9 месяцев со дня выпуска.

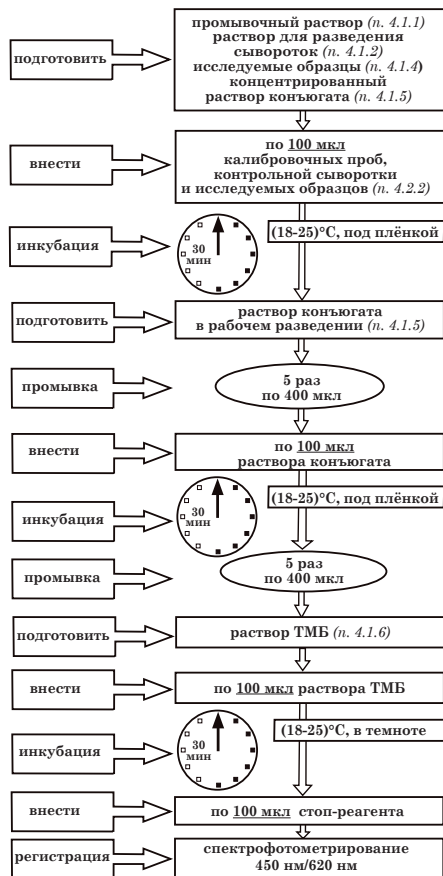
С рекламациями и вопросами по применению набора обращаться

в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, п. Кольцово, Новосибирской области, Новосибирского района, а/я 121,  
тел.: (383) 332-92-49, 227-60-30, 227-67-64;  
тел./факс: (383) 332-94-47, 332-94-44, 336-73-46;  
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

30.09.08

## Схема анализа D-3758



**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 путём  
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.: (383) 332-37-58, 332-37-10, 332-36-34,  
332-67-49, 332-67-52

Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)

E-mail: [vbmarket@online.nsk.su](mailto:vbmarket@online.nsk.su)

Internet: [www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)