

ВЕКТОР



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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**IgG-трансглутаминаза –
ИФА – Бест**

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-3760

Набор реагентов «IgG-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 G 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 «IgG-трансглутаминаза – ИФА – Бест» предназначен для количественного определения аутоантител класса G 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 G к тканевой трансглутаминазе, готовые для использования – по 1 фл. каждой (1,5 мл);
- контрольная сыворотка (КС) с известной концентрацией IgG к тканевой трансглутаминазе, готова для использования – 1 фл. (1,5 мл);
- конъюгат (антитела к IgG 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 IgG к tTG в одном и том же образце с использованием набора «IgG-трансклутаминаза – ИФА – Бест» не превышает 8%.

3.2. **Линейность.** Зависимость концентрации IgG к tTG в образцах сыворотки (*плазмы*) крови при разведении их сывороткой (*плазмой*) крови, не содержащей IgG 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» IgG к tTG – соответствие измеренной концентрации IgG 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 IgG 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 велтолена (*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 прогнать 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	
	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	
	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 наколечники 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 цефленовый пакет с влагопоглотителем, тщательно закрыть пакет пластиковой застёжкой. 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 разведённых (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 ₃	C ₃	C ₁₁	C ₁₁
B	5	5	C ₄	C ₄	C ₁₂	C ₁₂
C	10	10	C ₅	C ₅	C ₁₃	C ₁₃
D	20	20	C ₆	C ₆	C ₁₄	C ₁₄
E	100	100	C ₇	C ₇	C ₁₅	C ₁₅
F	КС	КС	C ₈	C ₈	C ₁₆	C ₁₆
G	C ₁	C ₁	C ₉	C ₉	C ₁₇	C ₁₇
H	C ₂	C ₂	C ₁₀	C ₁₀	C ₁₈	C ₁₈

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 инкубировать 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 медленно 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 IgG-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 провер-

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

Если концентрация tTG-IgG 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 IgG-антител к tTG в калибровочных пробах и в контрольной сыворотке дана в относительных единицах. При калибровке набора использован набор реагентов «**Anti-Tissue-Transglutaminase IgG**» 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.

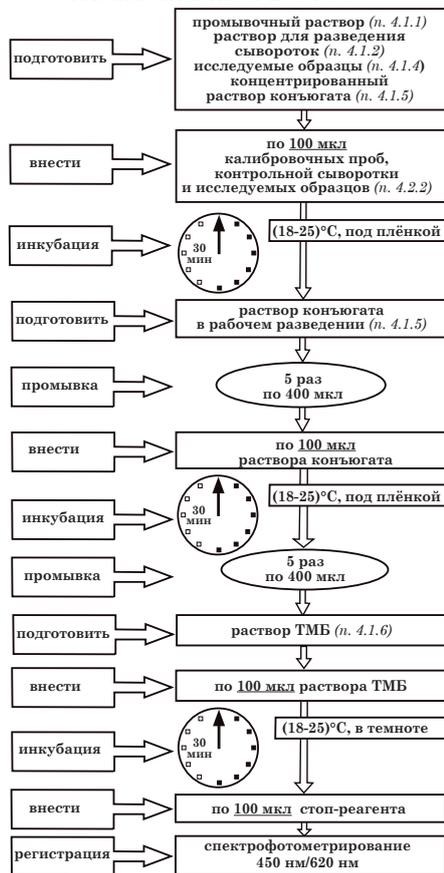
С рекламациями и вопросами по применению набора обращаться

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-3760



**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

Internet: www.vector-best.ru