

CP	7041/2007
	11.10.2012

Перший заступник

Голови Державної служби України

з лікарських засобів

І.Б.Демченко

11 жовтня 2012 р.

Інструкція

з використання тест-системи

для визначення імуноглобулінів А, М, G в сироватці крові

Ig A, M, G – ІФА

IN VITRO

Зберігати при 4-10°C

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип конкурентного імуноферментного аналізу. У лунки планшета з іммобілізованим антигеном (Ig A, M, G) вносять досліджуваний зразок та кон'югати (анти-IgA, анти-IgM, анти-IgG, мічені пероксидазою). Ig A, M, G із зразка конкурують з кон'югатами за зв'язок з антигеном на поверхні лунки. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату, та вимірюється при довжині хвилі 450 нм.

Інтенсивність кольорової реакції зворотно пропорційна кількості Ig A, M, G в зразку.

Клінічне значення

Імуноглобуліни являються показниками гуморального імунітету. Секретуються В-клітинами на кінцевій стадії їх диференціювання, тобто плазматичними клітинами.

IgA забезпечує місцевий імунітет за допомогою 2 фракцій: сироваткової та секреторної. Зв'язуючись з мікроорганізмами, антитіла класу А затримують їх приєднання до поверхні клітин. Збільшення концентрації Ig A говорить про гострі та хронічні інфекційні процеси (паразитарні, грибові, бактеріальні), захворювання печінки, системний червоний вовчак, мієломну хворобу, моноклональну гаммапатію. Зниження рівню відбувається при захворюваннях, які виснажують імунну систему, гострих вірусних інфекціях.

IgM першим виробляється у відповідь на гостру інфекцію та з'являється в кров'яному руслі, забезпечуючи первинний імунітет. Збільшення рівня спостерігається при гострому інфекційному процесі різного генезу (вірусні, бактеріальні, паразитарні, грибові захворювання), при гострих вірусних гепатитах, ауто імунних захворюваннях, пієлонефриті. Зниження рівня відбувається при хронічній вірусній інфекції, захворюваннях, які виснажують імунну систему. До класу імуноглобулінів М відносять ревматоїдний фактор.

IgG складає близько 80% всіх імуноглобулінів. Антитіла класу G забезпечують тривалий гуморальний імунітет при інфекційних хворобах, тобто представляють антитіла вторинної імунної відповіді на чужорідні агенти (віруси, бактерії, токсини). Збільшення рівня відбувається при хронічних та зворотних інфекціях, цирозі печінки, колагенозах. Зниження рівня спостерігається при втратах білка при ентеро- та нефропатіях, після спленектомії, новоутворюваннях лімфатичної системи та ін.

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном: 1-4 стрипи – Ig A, 5-8 – IgM, 9-12 - IgG, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Стандарт, 3 мл (1 фл.)
4. Фосфатно-сольовий буфер (ФСБ) концентрат 10 х, 30 мл (1 фл.)
5. Кон'югати анти-А, анти-М, анти-Г, 4 мл (3 фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Оптична щільність стандарту для Ig A, M, G не менш 0.3 оптичних одиниць (ОО).

Вміст імуноглобулінів у стандарті: IgA-1.9 г/л, IgM-1.2 г/л, IgG-11.8 г/л.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 4-10°C. Довгострокове зберігання допускається при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте необхідну кількість розчину ФСБ. Для цього концентрат розбавте 10-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику при 4-10°C.
3. Підготовка досліджуваних зразків: перед дослідженням 0.005 мл сироваток розводять в 1 мл ФСБ.

Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 6 лунок для стандарту та зразків в 2 повторах.
2. Внесіть у лунки 100 мкл стандарту та досліджуваних зразків.
3. Внесіть у лунки 100 мкл відповідних кон'югатів.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 20-25°C, періодично струшуючи або на шейкері.
5. Відмийте стрипи 5 разів розчином ФСБ.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте **15-20** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Не більше як через 5 хвилин визначте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на фотометрі при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
10. Визначте концентрацію Ig A, M, G в досліджуваних зразках по формулі.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл розчину ФСБ в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Розрахунок результатів

Проводять розрахунки, використовуючи зворотньо пропорційну залежність:

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{см}}}{E_{\text{дос}}} \times C_{\text{см}}$$

де: $C_{\text{дос}}$ – концентрація імуноглобуліну в досліджуваному зразку,

$C_{\text{см}}$ – концентрація імуноглобуліну в стандарті,

$E_{\text{дос}}$ – оптична щільність досліджуваного зразку,

$E_{\text{см}}$ – оптична щільність стандарту.

Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Концентрація імуноглобулінів в нормі:

Ig A - 1.25 – 2.5 г/л,

Ig M - 0.65 - 2 г/л,

Ig G - 7.5 - 18 г/л.

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 4-10°C. Не допускається замороження!

Після розкриття пакета **ретельно заклейте** лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс.з дня виготовлення набору.

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61050, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт

Тест-система для визначення
імуноглобулінів А, М, G в сироватці крові

Ig A, M, G – ІФА

IN VITRO

Серія **727**

Дата виготовлення **15.07.2013**

Термін придатності **15.01.2014**

Зберігати при 4-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	ОЩ стандарту не менш, оптичних одиниць		0.3	відповідає
1.2	Вміст у стандарті імуноглобулінів А, г/л		1.9	відповідає
1.3	М, г/л		1.2	відповідає
1.4	G, г/л		11.8	відповідає
1.5	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %		10	відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованими антигенами	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Стандарт	зелений	1 фл. х 3 мл	відповідає
2.4	Фосфатно-сольовий буфер (ФСБ) концентрат 10х	прозорий	1 фл. х 30 мл	відповідає
2.5	Кон'югат анти-А	червоний	1 фл. х 4 мл	відповідає
2.6	Кон'югат анти-М	зелений	1 фл. х 4 мл	відповідає
2.7	Кон'югат анти-G	синій	1 фл. х 4 мл	відповідає
2.8	Субстрат	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.9	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002