

Трансглутаміназа IgG ІФА

Імуноферментний аналіз для кількісного та якісного виявлення
IgG антитіл проти тканинної трансглутамінази (tTG)
в сироватці крові людини або плазмі (EDTA, цитрат, гепарин)

REF 30132293

 **96**



2-8°C

EU:



I B L I N T E R N A T I O N A L G M B H

Flughafenstrasse 52a
D-22335 Hamburg, Germany

Phone: +49 (0)40-53 28 91-0
Fax: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@IBL-International.com
www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1,
тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

1. Вступ та передумови

Целіакія (CD; синонім: глютен-чутлива ентеропатія вражає верхню частину тонкої кишки і викликана гіперчутливою реакцією на глютен, набір білків, присутніх у багатьох видах зернових злаків, наприклад, пшениця, овес, ячмінь та жито (1). Її морфологічний прояв, більш-менш повна атрофія ворсинок слизової оболонки, призводять до проблем з всмоктуванням, наприклад, хронічній вітамінній недостатності (2).

Вже багато років відомо, що підвищений рівень глютен - специфічних антитіл виникає в сироватках крові хворих на целіакію. Також специфічно пов'язаними з цим захворюванням є аутоантитіла, спрямовані проти ендомізію гладкої мускулатури (3, 4, 5, 6). Тканинна трансглютаміназа (tTG) була ідентифікована як переважний ендомізіальний аутоантиген CD (7).

Даний аналіз на імуноферментний сорбент (ІФА) призначений для кількісного або якісного визначення антитіл IgG, спрямованих проти tTG, у сироватці або плазмі людини (див. розділ 7). Імобілізований антиген являє собою високоочищений препарат людського рекомбінантного tTG, виражений у бакуловірусній системі. Тест швидкий (час інкубації 30/30/30 хвилин) і гнучкий (тверда фаза, що ділиться, готові до вживання реагенти). Шість калібраторів дозволяють проводити кількісні вимірювання; негативний і позитивний контроль - перевірити результати аналізу.

2. Попередження та запобіжні заходи

Тест-набір призначений тільки для діагностики *in vitro*; не для внутрішнього чи зовнішнього застосування у людей чи тварин.

Він повинен бути виконаний навченим персоналом.

Не використовуйте реактиви після їх терміну придатності.

Настійно рекомендується дотримання протоколу.

Розріджувач зразків, калібратори та контрольні засоби містять Na-азид як антимікробний засіб.

Буфер для миття містить бромнітродіоксан і кон'югат метилізотіазолінон / бромнітродіоксан як консервант.

Субстрат містить 3, 3', 5, 5'-тетраметилбензидин (ТМБ) і перекис водню (H₂O₂). ТМБ

Стоп-розчин, 0,2 М сірчана кислота (H₂SO₄), є кислим і корозійним.

Вищезазначені реагенти можуть бути токсичними при попаданні всередину. Дотримуйтесь звичайних заходів безпеки щодо поводження з небезпечними хімікаліями. Уникайте всіх контактів з тілом, надягайте рукавички та засоби захисту очей. Якщо один із реагентів входить в контакт зі шкірою або слизовою оболонкою, ретельно вимити водою. Ніколи не піпетуйте ротом. Утилізуйте з дотриманням місцевих / національних норм.

Na-Azide може вступати в реакцію зі свинцевим та мідним водопроводами, утворюючи азиди вибухонебезпечних металів. Після утилізації змийте його великою кількістю води для запобігання накопиченню азиду.

Калібратори та контролю містять компоненти людського походження. Їх випробовували на віруси імунодефіциту (ВІЛ) -Ag, поверхневий гепатит В (HBs) -Ag та антитіла проти ВІЛ 1/2 та гепатиту С-вірус (HCV) і показав негативні результати; або в рамках затвердженого FDA, або у відповідності зі стандартом CE, відповідно до Європейської Директиви 98/79 / ЄС.

Однак жоден тест не може гарантувати, що матеріал людського походження насправді не є інфекційним. Тому слід поводитися з препаратами як потенційно інфекційними і відповідно їх утилізувати, як і зразки (та їх залишки); відповідно до CDC (Центр контролю захворювань, Атланта, США) або інших місцевих / національних вказівок щодо лабораторної безпеки та дезактивації.

3. Принцип аналізу

Лунки твердої фази покриті tTG. На цій поверхні наступні імунологічні реакції відбуваються:

1-а реакція: специфічні до tTG антитіла, присутні у зразку, зв'язуються з імобілізованим антигеном, утворюючи антиген-антитіла комплекс. Потім незв'язані компоненти зразка вимиваються з твердої фази.

2-я реакція: Друге антитіло, спрямоване на антитіла IgG людини і кон'юговане з пероксидазою

хрону (HRP), додається. Цей кон'югат зв'язується з комплексом. Потім зайвий кон'югат вимивають з твердої фази.

3-я реакція: Маркований ферментом комплекс перетворює безбарвний субстрат у синій продукт. Ступінь розвитку кольору відображає концентрацію tTG IgG у зразку.

4. Зміст набору

а. **Мікропланшет МТР 1**, покритий tTG і герметично упакований у фольгований пакет разом з пакетом для осушувача. Планшет складається з 12 стріпів, кожен з яких можна розбити на 8 окремих лунок.

б. **Ферментний кон'югат ENZCONJ**, 14 мл, готовий до використання, червоного кольору.

Буферний розчин, що містить стабілізуючий білок, метилізотіазолінон та бромнітродіоксан.

в. **Калібратори A-F CAL A-F**, 2,0 мл кожен, 0 - 1,0 - 3,0 - 10 - 30 та 100 од tTG IgG / мл, готові до використання, поступово синій колір. Містять TBS, BSA, Tween і Na-azide.

г. **КОНТРОЛЬ - & CONTROL +** Негативний та позитивний контроль, 2,0 мл кожен, готовий до використання, зеленого та червоного кольору відповідно. Містять TBS, BSA, Tween і Na-azide.

д. **SAMPLEDIL Розчинник для зразків**, 100 мл, готовий до вживання, помаранчового кольору. Містить сольовий розчин, який містить буфер (TBS), альбумін сироватки великої рогатої худоби (BSA), Tween і Na-азид.

е. **TMB SUBS Розчин субстрату ТМБ**, 14 мл, готовий до вживання, безбарвний. Містить буферний розчин ТМБ і H₂O₂. Міститься у флаконі, непроникному для світла.

ж. **Буфер для промивання WASHBUF CONC**, 100 мл, концентрат 10х, синього кольору. Містить TBS, Tween та бромнітродіоксан.

з). **STOP ТМБ стоп-розчин (0,2 М H₂SO₄)**, 14 мл, безбарвний, готовий до використання. Обережно: сірчана кислота є корозійною.

и). Вказівки щодо використання

к). Лот-специфічний сертифікат аналізу

5. Матеріали, необхідні, але не надані

а. Дейонізована або дистильована вода

б. Градуйований циліндр, 1000 мл

в. Пробірки для розведення зразків (рекомендується передати пробірки у форматі мікропланшетів)

г. Піпетки на 10, 100 і 1000 мкл (рекомендується 1- і 8-канальна піпетка)

д. Вошер для мікропланшетів (додатково)

е. Фотометр мікропланшету з фільтром 450 нм

г. Програма оцінки ІФА (рекомендується)

6. Зберігання набору

Зберігати набір при 2 - 8 ° С. Він стійкий до терміну придатності, зазначеного на етикетці коробки. Не використовуйте набір з перевищенням його терміну придатності.

7. Вимоги щодо підготовки реагенту та зразка / зразка

Не обмінюйте та не об'єднуйте відповідні компоненти з різних наборів через можливо різні умови доставки або умови зберігання. Якщо набір потрібно використовувати для декількох випробувань, потрібно вилучити лише необхідну кількість реагентів. Надзвичайно важливо, щоб між реагентами не виникало перехресного забруднення.

Використовуйте лише чисті піпетки і не заливайте залишки в оригінальні колби.

а. Тверда фаза повинна досягати кімнатної температури перед відкриттям пакету. Видаліть надмірні мікролунки з рами і негайно покладіть їх назад в пакет разом з осушувачем. Герметично закрийте пакет і зберігайте його в холодильнику для подальшого використання.

б. Розведіть 10-разовий концентрат промивного буфера (100 мл, синій) з 900 мл дейонізованої води. Ретельно перемішайте. Розведений буфер стабільний протягом декількох тижнів, якщо зберігати в холодильнику (2 - 8 ° С).

с. Підготовка зразків: обробляти зразки пацієнта як потенційно інфекційних агентів. Крім сироватки, EDTA-, цитрат - або гепарин- обробленою плазмою, також є відповідним матеріалом для зразків.

Вимоги до зразка: зразки високоліпемічні, гемолізовані або мікробно забруднені можуть привести до помилкових результатів і їх слід уникати.

Підготуйте зразки, використовуючи звичайні лабораторні методи. Каламутні зразки спочатку слід очистити (центрифугувати). Прояснені або прозорі зразки змішують і потім розбавляють 1/100, наприклад 10 мкл сироватки або плазми + буфер зразка 990 мкл. Також змішайте розведення.

Для швидкого дозування під час процедури аналізу підготовка калібраторів, контролів та зразків в мікролунках рекомендується. Це дозволяє працювати 8-канальною піпеткою під час процедури аналізу.

Якщо зразки не аналізуються негайно, їх слід зберігати при температурі 2 - 8 ° C та аналізувати протягом 3 днів.

Для більш тривалого зберігання рекомендується -20 ° C або нижчі температури. Повторного заморожування та відтавання зразків слід уникати. Розморожені зразки перед розведенням слід перемішати.

8. Процедура аналізу

Перед початком аналізу всі компоненти набору повинні досягати кімнатної температури (23 ± 3 ° C).

Для досягнення найкращих результатів, тобто максимального співвідношення між конкретним та фоновим сигналом, ретельне промивання є важливим (кроки а, с і е). Важливо повністю видалити миючий розчин повністю. Для цієї мети міцно постукуйте планшетом по декількох шарах абсорбуючої тканини. Автоматизовані вошери повинні бути перевірені за результатами, отриманими при ручному промиванні.

а. Безпосередньо перед застосуванням один раз промийте тверду фазу: заповніть лунки по 350 мкл промивного буфера кожен, дайте намокнути приблизно 10 секунд в лунках і видаліть.

б. Розподіліть калібратори (по 2,0 мл кожен, готові до використання, поступово синій), контролі (по 2,0 мл кожен, готові до вживання, зелений та червоний) та розведені зразки швидко у мікролунки; 100 мкл на лунку. Рекомендується вимірювання в дублікатах.

Інкубіруйте планшет протягом 30 хвилин при кімнатній температурі (23 ± 3 ° C).

с. Промийте лунки 4 рази, як на етапі а.

д. Швидко (переважно, використовуючи 8-канальну піпетку) дозують кон'югат (14 мл, готовий до використання, червоний); 100 мкл на лунку. Інкубуйте планшет, як на етапі б.

е. Повторіть крок промивання с.

ф. Швидко (бажано, використовуючи 8-канальну піпетку) дозуйте субстрат ТМБ (14 мл, готовий до використання, безбарвний, чорний флакон); 100 мкл на лунку. Інкубуйте планшет, як на етапі б. Так як субстрат є світлочутливий, уникайте інтенсивного впливу світла (наприклад, прямих сонячних променів) під час інкубації.

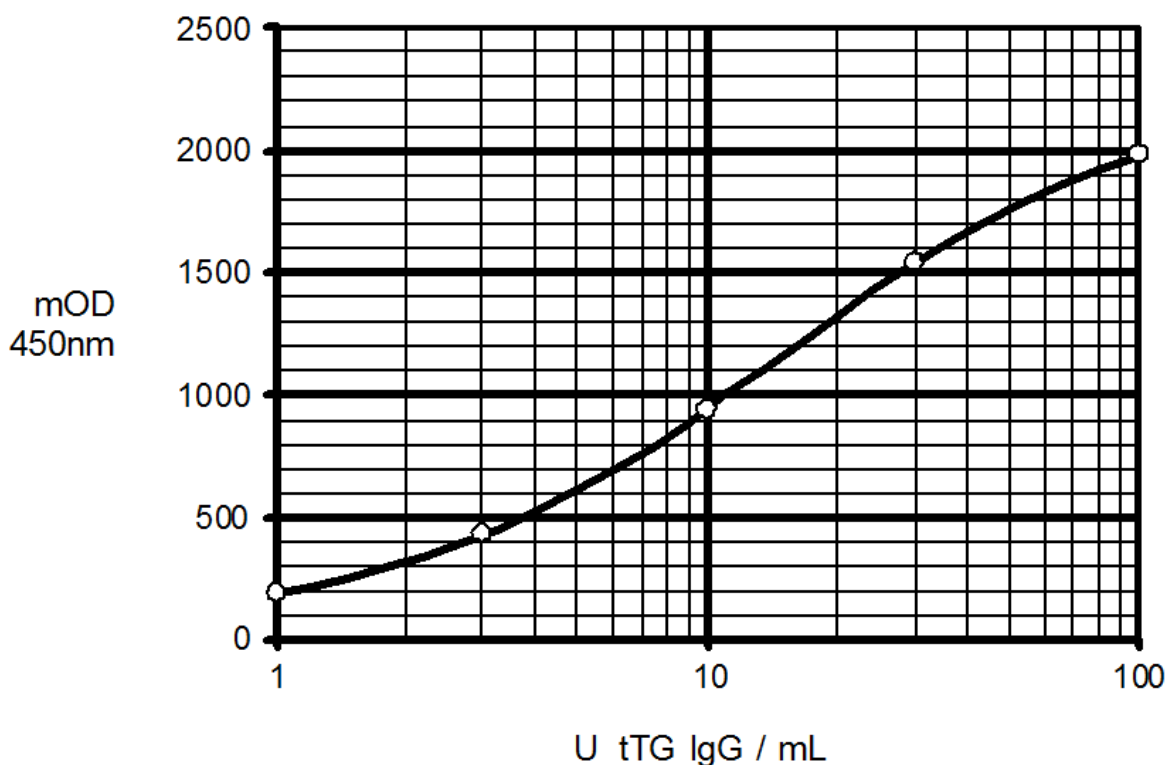
г. Швидко (бажано за допомогою 8-канальної піпетки) дозуйте стоп-розчин ТМБ (14 мл, готовий до вживання, безбарвний Обережно: корозійно !); 100 мкл на лунку. Використовуйте ту ж послідовність, що і для субстрату. Колір змінюється від синього до жовтого. Розмішайте планшет, бажано на орбітальному шейкері, приблизно 10 секунд.

h. Негайно зчитуйте поглинання у фотометрі мікропланшета на 450 нм.

Залиште в холодильнику залишки реагентів (2 - 8 ° C), якщо вони будуть використані пізніше.

9. Оцінка та контроль якості

Кількісна оцінка: отримані дані кількісно оцінюються за допомогою стандартної кривої, як показано нижче. Однак зображена крива може служити лише моделлю. Вона не може замінити вимірювання калібраторів разом із контрольними та фактичними зразками. Крива побудована з звичайною програмою оцінки ІФА, використовуючи 4-параметричну функцію. Наближення сплайн також є відповідним.



Якщо неможлива комп'ютерна підтримка оцінки, стандартна крива може бути намальована вручну. Це дозволяє перетворити значення поглинання зразка в його концентрацію, тобто в Од tTG IgG на мл зразку.

Якісне оцінювання: тест також може бути оцінено якісно. Для цього потрібні вимірювання тільки позитивного контролю. Тим не менш, вимірювання та дослідження негативного контролю рекомендується (див. нижче: контроль якості).

При якісному оцінюванні тесту поглинання зразків порівнюється з граничним поглинанням (= пороговим). Воно визначається за такою формулою:

абсорбція порогова = поглинання позитивного контролю x коефіцієнт

Коефіцієнт залежить від партії набору і зазначений в лот-специфічному сертифікаті аналізу, який включений з кожним тестовим набором. Приклад:

поглинання позитивного контролю = 1250 значення ОГ

коефіцієнт = 0,35

граничне поглинання = 1250 значення ОГ x 0,35 = 438 значення ОГ

Щоб скласти уявлення про те, наскільки позитивним є певний зразок щодо tTG IgG, можна розрахувати співвідношення, за формулою:

співвідношення = поглинання зразка / поглинання граничне

Приклад:

поглинання = 438 значення ОГ

поглинання зразка = 1480 значення ОГ

співвідношення = 1480 значення ОГ / 438 значення ОГ = 3,4

Контроль якості: позитивний та негативний контроль перевіряють результати виконання аналізу. Їх дозволені значення та прийнятні діапазони, відповідно, зазначені у лот-специфічному сертифікаті аналізу. Значення контролів повинні входити до зазначених діапазонів; в іншому випадку результати аналізу недійсні.

10. Інтерпретація результатів / обмеження процедури

На основі вимірювання донора крові та позитивного колективу сироваток (див. нижче) ми пропонуємо оцінку сироваток пацієнта:

	Кількісна оцінка Од tTG IgG/мл зразок	Якісна оцінка співвідношення
Нормальний (негативний діапазон)	< 2,6	< 0,89
порогове	3,0	1,00
Сумнівний діапазон	2,6 - 3,5	0,89 - 1,12
Позитивний діапазон	> 3,5	> 1,12

Ці характеристики наведені лише як вказівка; щоб перевірити їх точність, кожен аналіз повинен включати паралельні зразки нормальних сироваток.

Негативний результат тесту вказує на те, що у пацієнта немає підвищеного рівня антитіл IgG до tTG. Зважаючи на низьку чутливість ІФА (див. розділ 11.7), такий результат не виключає наявності CD. Якщо спостерігаються клінічні ознаки, антитіла IgA, спрямовані на tTG та / або IgG / IgA антитіла проти модифікованих пептидів гліадину (MGP) слід визначати.

Через високу специфічність tTG IgG для CD (див. Статтю 11.7) позитивний результат слід розглядати як вказівку на захворювання.

Зразки, що демонструють результати між зазначеними вище граничними межами, слід розглядати як сумнівні та повідомляти як такі. Рекомендується другий зразок відібрати через два тижні і зробити прогон паралельно з першим зразком, документують можливу зміну титру антитіл.

Як і будь-який серологічний тест, результати слід інтерпретувати з урахуванням симптомів та інших діагностичних критеріїв. Більш детально, остаточний діагноз целиакії вимагає як мінімум наступні 3 критерії:

- серологічний тест: tTG IgA-антитіла в сироватці пацієнтів;
- гістологічний тест: біопсія та гістологічна оцінка за класифікацією Оберхубера-Марша;
- харчовий тест: ремісія (симптомів та серологічних результатів) на безглютеневій дієті. Отже, під час періоду діагностики, у пацієнтів повинні брати кілька разів зразки крові та контролювати їх (8 - 11).

Якщо один з цих критеріїв не виконується, лікуючий лікар повинен звернутися до офіційних вказівок для прийняття рішення щодо подальших кроків, які потрібно вжити для діагностики та лікування (12 - 15).

11. Характеристики виконання

11.1. Стандартизація

Тест стандартизований з очищеним сироватковим препаратом, що містить антитіла IgG, спеціально спрямовані на tTG. Цей препарат відкалібрований проти набору поступово позитивних сироваток, виключно зарезервованих для цієї мети.

Ступінь реактивності зразка вимірюється у довільних одиницях (од / мл), оскільки міжнародного стандарту не існує.

11.2. Аналітична специфічність

Тест дозволяє специфічно визначити антитіла до IgG людини, спрямовані проти tTG.

11.3. Межа виявлення (аналітична чутливість)

Межа виявлення визначається як концентрація аналіту, що відповідає середньому поглинанню Розріджувач для зразків плюс триразове стандартне відхилення. Він визначається як <0,1 од tTG IgG на мл зразка (n = 24). Рекомендований діапазон вимірювання: 0,5 - 80 Од / мл.

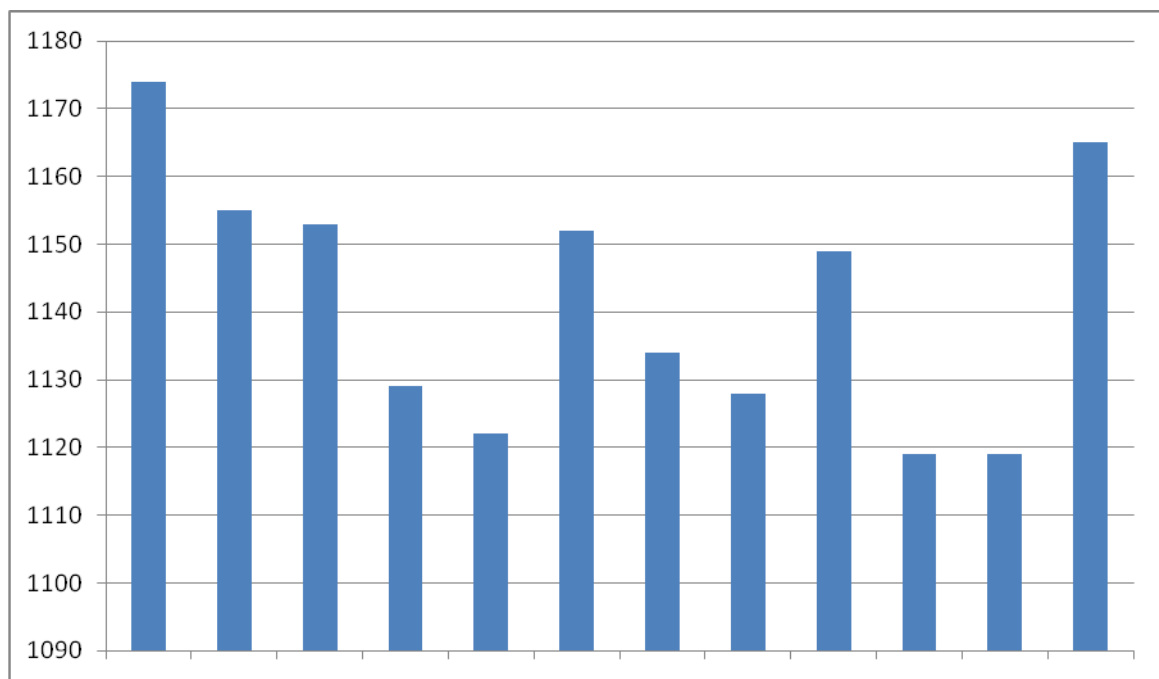
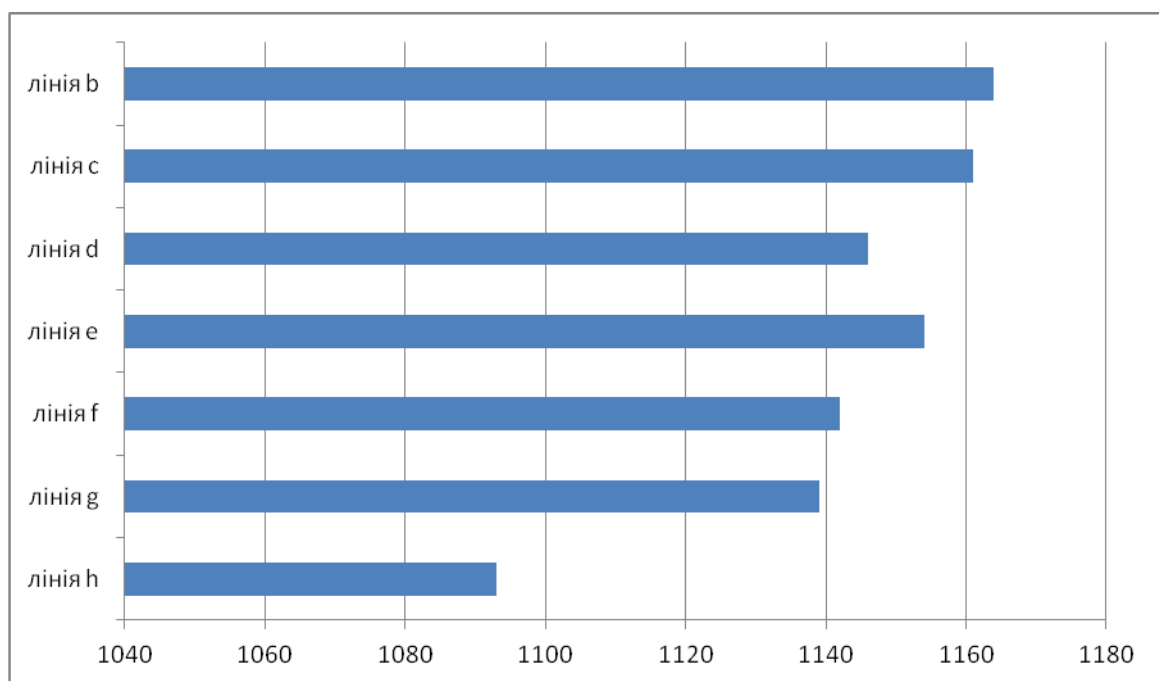
11.4. Однорідність твердої фази

Вимірювання однорідності твердої фази є регулярною частиною КЯ кожної виробничої партії. Це визначається 288-кратним вимірюванням IgA-позитивного, але ненасиченого зразка на 3-х вибраних планшетах.

Критерій прийняття: значення ОГ - коефіцієнт варіабельності (cv) на планшетах <8%.

На малюнку нижче представлений репрезентативний уривок (партія твердої фази № 1211R) такого аналізу.

планшет	1	Кільк/2	кільк	1	Кільк/2	кільк	1	Кільк/2	кільк	1	Кільк/2	кільк	середнє	CV%
ряд	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4		
Лінія А	1180	1141	1156	1121	1124	1145	1149	1109	1154	1077	1096	1157	1134	2.6
Лінія В	1189	1179	1166	1143	1146	1172	1151	1147	1172	1159	1152	1192	1164	1.5
Лінія С	1201	1180	1161	1133	1156	1170	1147	1143	1157	1160	1150	1174	1161	1.6
Лінія Д	1167	1151	1164	1134	1138	1158	1143	1120	1142	1134	1136	1168	1146	1.3
Лінія Е	1194	1165	1158	1138	1147	1173	1141	1146	1164	1117	1135	1164	1154	1.8
Лінія F	1137	1149	1162	1139	1109	1158	1135	1132	1159	1127	1120	1181	1142	1.8
Лінія G	1154	1158	1162	1133	1093	1144	1120	1134	1146	1131	1098	1189	1139	2.4
Лінія H	1095	1116	1096	1094	1064	1096	1082	1089	1094	1050	1068	1167	1093	2.7
середнє	1165	1155	1153	1129	1122	1152	1134	1128	1149	1119	1119	1174	1142	
CV%	3.0	1,8	2,0	1,4	2,8	2,2	2,0	1,8	2,1	3,4	2,7	1,1		2.7



11.5. Лінійність

Для оцінки співвідношення доза-відповідь тесту позитивні сироватки вимірювали серійно 2-кратними розведеннями. Критерій прийняття: лінійна регресія 4 послідовних розведень повинна давати коефіцієнт кореляції $> 0,98$. Типовий результат зображений нижче.

11.6. Точність

Для оцінки точності випробувань мінливість результатів за наступних умов була визначено: а. протягом 1 аналізу та між 3 аналізами, б. між 3 операторами та с. між 2 партіями наборів.

а. В аналізі - та між – аналізами варіабельність ($n = 24$ та 72 відповідно)

зразок	Середнє од/мл	Варіабельність (cv, %)	
		В аналізі	Між аналізами
1	4,6	3,2	3,4
2	12	5,2	5,8
3	41	4,2	6,6

б. Варіабельність від оператора до оператора (кількість = 12)

зразок	Середнє од/мл	Варіабельність (cv, %)
1	4,5	3,4
2	11	5,6
3	35	8,2

с. варіабельність між 2 лотами наборів (кількість = 6)

зразок	Середнє од/мл	Варіабельність (cv, %)
1	4,7	10,0
2	10	5,2
3	40	11,2

11.7. Частотний розподіл tTG IgG

Це було проаналізовано у колективі сироваток донорів крові, однаково розподілених за статтю та віком, та колективі сироваток, виявлених позитивними як для гліадину IgA, так і для tTG IgA згідно з посиланнями ІФА, сумісними з СЕ.

Спостерігалось таке розподіл аналіту:

позитивні сироватки донора крові

n: 160

середнє значення: 0,6 Од / мл

середнє значення + s: 0,9 Од / мл

середнє значення + 2s: 1,2 од / мл

медіана: 0,5 Од / мл,

95-й перцентиль: 1,5 Од / мл

позитивні сироватки

n: 22

середнє: 17 Од / мл

середнє значення - s: < 0 Од / мл

середнє - 2s: < 0 од / мл

медіана: 0,9 Од / мл

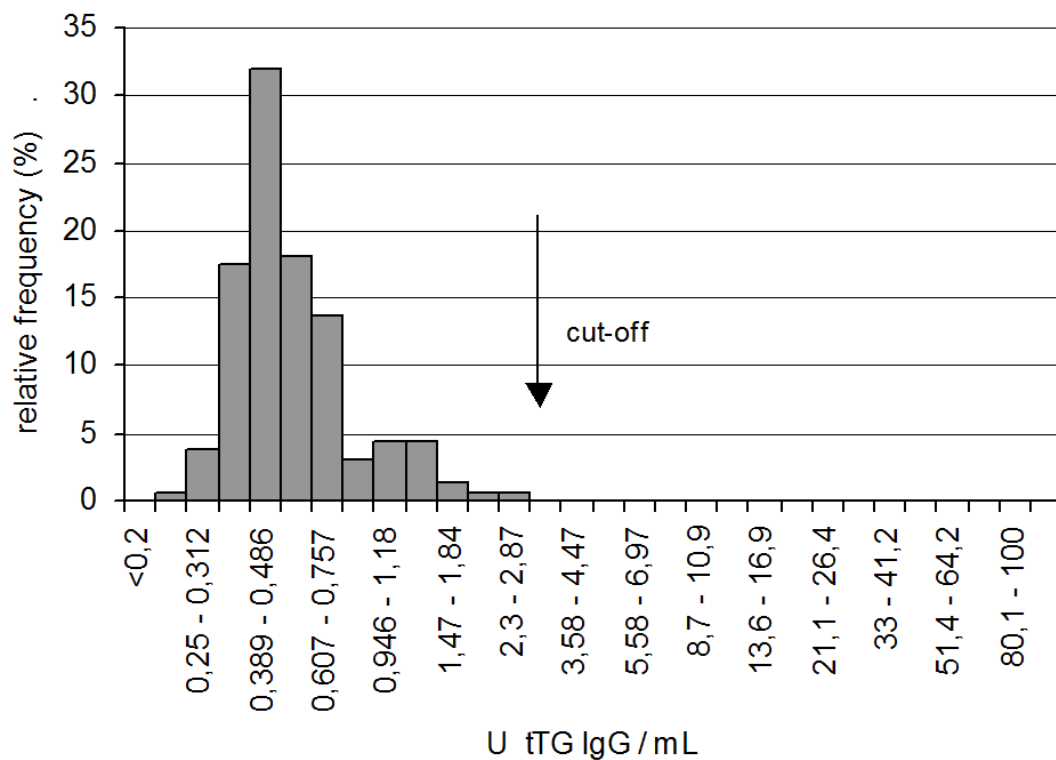
5-й перцентиль: 0,4 Од / мл

ROC-аналіз цих даних був використаний для визначення порогового значення ОГ як 3,0 Од / мл (16).

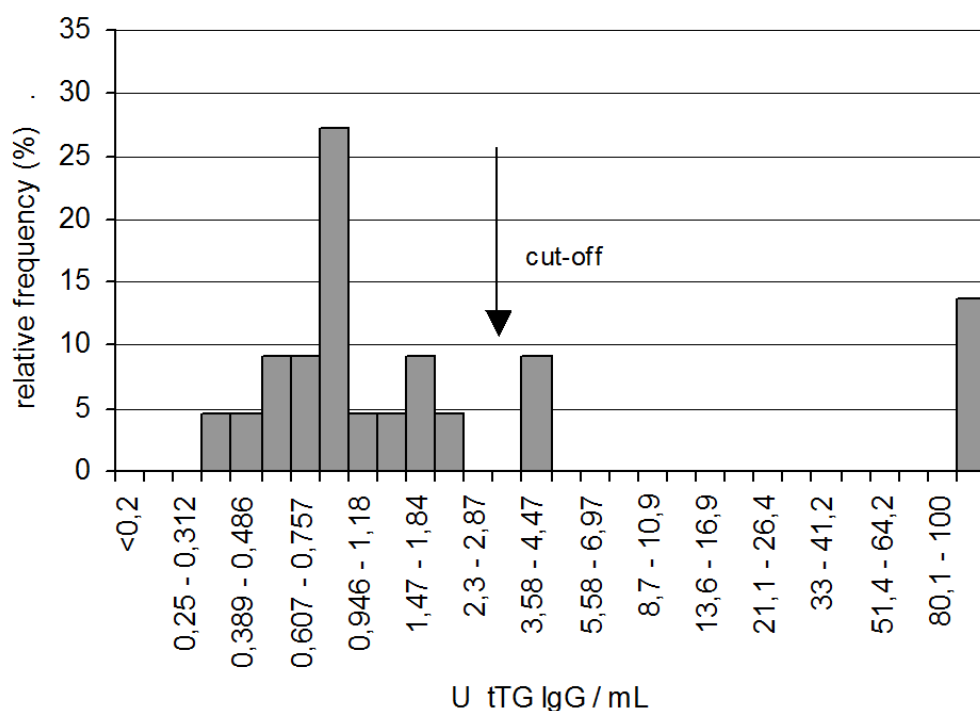
Дані, представлені тут припускають діагностичну специфічність та чутливість ІФА майже 100 і приблизно 23% відповідно.

Низька чутливість (порівняно з > 90% tTG IgA) є очевидним погіршенням параметрів. Вимірювання tTG IgG доцільно у випадках селективного дефіциту IgA, стану при у 10 разів більша поширеність у хворих на целиацію порівняно з нормальною популяцією (17). У такому IgA визначення колективів, повідомлялося про чутливість близько 90% параметра tTG IgG (18); знахідка що підкреслює ціннісну роль ІФА tTG IgG як доповнення ІФА tTG IgA.

blood donor sera



positive sera



12. Гарантія

IBL International GmbH гарантує, що поставлений продукт пройшов ретельну перевірку, щоб гарантувати його якість і властивості, зазначені тут, виконуються. Подальші гарантії не надаються. Представлені тут дані про ефективність були отримані за допомогою зазначеної процедури. Будь-які зміни в процедурі можуть вплинути на результати, в якому випадку IBL відмовляється від усіх гарантій, будь то виражені, маються на увазі чи статутні. Більше того, IBL не несе відповідальності за будь-які збитки, прямі, непрямі чи наслідкові, які є результатом неправильного використання або зберігання продукту.

13. ЛІТЕРАТУРА

1. Mäki, M., Collin, P.: Coeliac disease. *Lancet* 349 (1997), 1755 - 1759
2. Lindberg, T., et al.: Serum IgA and IgG gliadin antibodies and small intestinal mucosal damage in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 4 (1985), 917 - 922
3. Bode, S., et al.: The diagnostic value of the gliadin antibody test in celiac disease in children - a prospective study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 17 (1993), 260 - 264
4. Catassi, C., et al.: Antigliadin antibody screening for coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 83 (1994), 349 - 350
5. Bode, S., Gudmand-Hoyer, E.: Evaluation of the gliadin antibody test for diagnosing coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 29 (1994), 148 - 152
6. Vitoria, J. C., et al.: Use of serological markers as a screening test in family members of patients with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 19 (1994), 304 - 309
7. Dieterich, W., et al.: Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature Med* 3 (1997), 797 - 801
8. Marsh, M. N.: Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity („celiac sprue“). *Gastroenterology* 102/1 (1992), 330 - 354
9. Oberhuber, G., et al.: The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11/10 (1999), 1185 - 1194
10. Oberhuber, G., et al.: Empfehlungen zur Zöliakie-/Spruediagnostik. Arbeitsge-meinschaft für gastroenterologische Pathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie. *Pathologie* 22/1 (2001), 72 - 81
11. Oberhuber, G., et al.: Arbeitsgemeinschaft für gastroenterologische Pathologie Pathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie. Empfehlungen zur Zöliakie-/Spruediagnostik. *Z Gastroenterol* 39/2 (2001), 157 - 166
12. von Arnim, U., Canbay, A.: Zöliakie – Pathogenese, Epidemiologie, Diagnostik und Therapie. *Gastroenterologie* 13 (2018), 143 – 153
13. Felber, J., et al.: Ergebnisse einer S2k-Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen (DGVS) gemeinsam mit der Deutschen Zöliakie-Gesellschaft (DZG) zur Zöliakie, Weizenallergie und Weizensensitivität. *Z Gastroenterol* 52/7 (2014), 711 - 743
14. Schuppan, D., Zimmer, K.: The Diagnosis and Treatment of Celiac Disease. *Dtsch Arztebl Int* 110/49 (2013), 835 – 846
15. Tonutti, E., Bizzaro, N.: Diagnosis and classification of celiac disease and gluten sensitivity. *Autoimmunity Reviews* 13 (2014), 472 – 476
16. Sommer, R., and Eitelberger, F.: Wertigkeit der Gliadin-Antikörper im Serum zur Diagnose der Zöliakie. *Wien Klin Wochenschr* 104/4 (1992), 86 - 92
17. Thomas, L.: Antikörper bei gastrointestinalen Erkrankungen. In: Thomas, L. (ed.): *Labor und Diagnose* (6th edition, 2005), 1188 - 1192, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main
18. Rostom, A., et al.: The diagnostic accuracy of serological tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 128 (2005), S38 – 46

14. Підсумкова схема руху

- а. Розведіть зразки 1/100 в розріджувачі для зразків (100 мл, готовий до вживання, апельсин) і перемішайте.
- б. Розведіть 10х-концентрат промивного буфера (100 мл, синій) і перемішайте.
- с. Промийте лунки один раз 350 мкл промивного буфера кожен. Розподіліть 100 мкл калібраторів (по 2,0 мл кожен, готовий до вживання, поступово синій) та контрольні засоби (по 2,0 мл кожен, готовий до вживання, зелений та червоний) та розведені зразки в лунки твердої фази. Рекомендуються повторювані вимірювання.
- Інкубуйте протягом 30 хвилин при кімнатній температурі (23 ± 3 ° C).
- г. Промийте лунки 4 рази по 350 мкл промивного буфера кожен.
- е. Розподіліть 100 мкл кон'югату (14 мл, готовий до вживання, червоний) у лунки. Інкубуйте, як на етапі с.
- ф. Повторіть крок промивання d.
- г). Розподіліть 100 мкл розчину субстрату ТМБ (14 мл, готовий до вживання, чорний флакон) на лунку. Інкубація як в кроці с. Потім додають стоп-розчин 100 мкл ТМБ (14 мл, готовий до вживання, безбарвний) на лунку і перемішують планшет коротко.
- h). негайно виміряйте поглинання при 450 нм.
- і. Кількісна оцінка: визначте стандартну криву і, використовуючи цю криву, перетворіть поглинання зразків у відповідній концентрації антитіл (од / мл).
- j. Якісна оцінка: визначити граничне поглинання шляхом множення поглинання на позитивного контролю з коефіцієнтом, показаним у сертифікаті аналізу. Потім обчисліть відношення зразків шляхом ділення їх поглинання на граничну абсорбцію

УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред'явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.

ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОГО (-ИХ) НАБОРУ (ІВ) . ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH	Тел .:	+ 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11
	Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург,	E-MAIL:	IBL@IBL-International.com
	Німеччина	WEB:	http://www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua