

Інструкція із застосування

ІФА трансглутаміназа ІgА

Імуноферментний аналіз для кількісного або якісного визначення аутоантитіл (ІgА) проти рекомбінантної тканинної трансглутамінази людини (tTG) у сироватці або плазмі людини (ЕДТА, цитрат, гепарин).




30132295



12 x 8



2°C  **8°C**

EU:



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



IBL International GmbH
Флугафенштрассе, 52а
22335 Гамбург, Німеччина

Always there for you



1. ОГЛЯД

1.1 Вступ та передумови

Целиакія (ЦХ; синонім: глютеночутлива ентеропатія) вражає верхні відділи тонкої кишки та викликається гіперчутливою реакцією на глютен – набір білків, присутніх у багатьох видах зернових культур, наприклад, пшениці, вівсі, ячмені та житі (1). Її морфологічний прояв, більш-менш повна атрофія ворсинок слизової оболонки, призводить до проблем мальпоглинання, наприклад, хронічного дефіциту вітамінів (2).

Вже багато років відомо, що в сироватках крові пацієнтів з целиакією спостерігається підвищений рівень глютенспецифічних антитіл. Також аутоантитіла, спрямовані проти ендомізію гладких м'язів, специфічно пов'язані з цим захворюванням (3, 4, 5, 6). Тканинна трансглютаміназа (тТГ) була ідентифікована як переважний ендомізіальний аутоантиген целиакії (7).

Цей імуноферментний аналіз (ІФА) призначений для кількісного або якісного визначення антитіл IgA, спрямованих проти tTG, у сироватці або плазмі людини (див. розділ 7). Імобілізований антиген являє собою високоочищений препарат рекомбінантного tTG людини, експресованого в системі бакуловірусу. Тест є швидким (час інкубації 30/30/30 хвилин) та гнучким (подільна тверда фаза, готові до використання реагенти). Шість калібраторів дозволяють проводити кількісні вимірювання; негативний та позитивний контроль перевіряють ефективність аналізу.

1.2 Цільове призначення

ІФА з трансглютаміназою IgA – це імуноферментний аналіз (ІФА), призначений для кількісного або якісного визначення антитіл класу IgA, спрямованих проти тканинної трансглютамінази (тТГ), у зразках сироватки або плазми людини.

Його функція полягає в допомозі в діагностиці глютен-чутливих ентеропатій, таких як целиакія та герпетиформний дерматит.

Цей продукт призначений лише для ручного професійного використання в діагностиці *in vitro*.

2. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Тестовий набір призначений лише для діагностики *in vitro*; не для внутрішнього або зовнішнього застосування людям чи тваринам.

Його повинні виконувати кваліфіковані професійні працівники.

Набір пройшов випробування на стійкість під час транспортування та може зберігатися без холодильника до 3 днів. Зберігайте при температурі від 2 до 8°C після отримання. У разі сумнівів зверніться до місцевого дистриб'ютора або виробника.

Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.

Наполегливо рекомендується дотримуватися протоколу.

Розчинник для розведення зразків, калібратори та контролі містять азид натрію як антимікробний агент. Буфер для промивання містить бромнітродіоксан та кон'югат метилізотіазолін/бромнітродіоксан як консервант. Субстрат містить 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) та пероксид водню (H₂O₂). Стоп-розчин, 0,2 М сірчана кислота (H₂SO₄), є кислим та корозійним.

Вищезгадані реагенти можуть бути токсичними при проковтуванні. Дотримуйтесь звичайних запобіжних заходів щодо поводження з небезпечними хімічними речовинами. Уникайте будь-якого контакту з тілом, використовуйте рукавички та захист для очей. Якщо один з реагентів потрапить на шкіру або слизову оболонку, ретельно промийте водою. Ніколи не використовуйте піпетку ротом. Утилізуйте відповідно до місцевих/національних правил.

Азид натрію може реагувати зі свинцевою та мідною сантехнікою, утворюючи вибухонебезпечні азиди металів. Після утилізації змийте великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азиду.

Калібратори та контролі містять компоненти людського походження. Вони були протестовані на наявність антигену вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ), поверхневого антигену гепатиту В (HBs) та антитіл проти ВІЛ 1/2 та вірусу гепатиту С (ВГС) і показали негативні результати; або в тесті, схваленому FDA, або в тесті, що відповідає стандартам CE, відповідно до Європейської директиви 98/79/ЄС.

Однак жоден тест не може гарантувати, що матеріал людського походження насправді не є інфекційним. Тому препарати слід розглядати як потенційно інфекційні та утилізувати відповідно, як і зразки (та їх залишки); згідно з CDC (Центр контролю та профілактики захворювань, Атланта, США) або іншими місцевими/національними рекомендаціями щодо лабораторної безпеки та деконтамінації.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

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

1-ша реакція: tTG-специфічні антитіла, присутні у зразку, зв'язуються з іммобілізованим антигеном, утворюючи комплекс антиген-антитіло. Потім незв'язані компоненти зразка змиваються з твердої фази.

2-га реакція: Додають друге антитіло, спрямоване проти людських IgA-антитіл та кон'юговане з пероксидазою хрому (HRP). Цей кон'югат зв'язується з комплексом. Потім надлишок кон'югату змивається з твердої фази.

3-тя реакція: Мічений ферментом комплекс перетворює безбарвний субстрат на синій продукт. Ступінь розвитку кольору відображає концентрацію tTG IgA у зразку.

4. ВМІСТ НАБОРУ

- a. **МТП1** мікротитровальний планшет, покритий tTG та герметично упакований у фольгований пакет разом із пакетом з осушувачем. Планшет складається з 12 стріпів, кожен з яких можна розламати на 8 окремих лунок.
- b. **Ферментний кон'югат ENZCONJ**, 14 мл, готовий до використання, жовтого кольору. Буферний розчин, що містить стабілізуючий білок, метилізотіазолінон та бромнітродіоксан.
- c. **CAL A-F Калібратор AF**, по 2,0 мл кожен, 0 - 1,0 - 3,0 - 10 - 30 та 100 U tTG IgA/мл, готові до використання, поступово блакитніють. Містять TBS, BSA, Tween та Na-азид.
- d. **КОНТРОЛЬ -& КОНТРОЛЬ +** Негативний та позитивний контроль, по 2,0 мл кожен, готові до використання, зеленого та червоного кольору відповідно. Містять TBS, BSA, Tween та Na-азид.
- e. **Розчинник зразків SAMPLEDIL**, 100 мл, готовий до використання, помаранчевого кольору. Містить трис-буферний фізіологічний розчин (TBS), бичачий сироватковий альбумін (BSA), твін та натрій-азид.
- f. **Розчин субстрату TMB SUBS**, 14 мл, готовий до використання, безбарвний. Містить буферний розчин ТМБ та H₂O₂. Зберігається у флаконі, непроникному для світла.
- g. **WASHBUF Концентрований промивний буфер**, 100 мл, 10-кратний концентрат, синього кольору. Містить TBS, Tween та бромнітродіоксан.
- h. **STOP TMB Стоп розчин**(0,2 M H₂SO₄), 14 мл, безбарвний, готовий до використання. Увага: сірчана кислота є корозійною.
- i. Інструкція із застосування
- j. Сертифікат аналізу для конкретної партії

5. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ НАДАЮТЬСЯ

- a. Дейонізована або дистильована вода
- b. Мірний циліндр, 1000 мл
- c. Пробірки для розведення зразків (рекомендовано використовувати пробірки для перенесення у форматі мікропланшета)
- d. Піпетки на 10, 100 та 1000 мкл (рекомендовано використовувати 1- та 8-канальні піпетки)
- e. Промивач мікропланшетів (необов'язково)
- f. Фотометр для мікропланшетів з фільтром 450 нм
- g. Програма оцінки ІФА (рекомендовано)

7. ЗБЕРІГАННЯ НАБОРУ

Зберігайте набір при температурі 2–8°C, не заморожуйте. Він стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці коробки. Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності.

7. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ТА ЗРАЗКІВ / ВИМОГИ ДО ЗРАЗКІВ

Не обмінюйте та не об'єднуйте відповідні компоненти з різних наборів через можливі різні умови доставки або зберігання. Якщо набір використовуватиметься для кількох тестів, слід відбирати лише необхідну кількість реагентів. Вкрай важливо, щоб не сталося перехресного забруднення між реагентами. Використовуйте лише чисті піпетки та не зливайте залишки назад у оригінальні колби.

a. Тверда фаза повинна досягти кімнатної температури перед відкриттям пакета. Вийміть зайві мікролунки з рамки та негайно помістіть їх назад у пакет разом із пакетом з осушувачем. Герметично закрийте пакет та зберігайте його в холодильнику для подальшого використання.

b. Розведіть 10-кратний концентрат промивного буфера (100 мл, синій) 900 мл дейонізованої води. Ретельно перемішайте. Розведений буферний розчин стабільний протягом кількох тижнів, якщо зберігати його в холодильнику (2-8°C).

c. Підготовка зразків: поведіться зі зразками пацієнтів як з потенційно інфекційними агентами. Окрім сироватки, придатним матеріалом для зразків також є плазма, оброблена ЕДТА, цитратом або гепарином.

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

Підготуйте зразки, використовуючи звичайні лабораторні методи. Каламутні зразки спочатку необхідно освітлити (центрифугувати). Прояснені або прозорі зразки змішують, а потім розводять 1/100, наприклад, 10 мкл сироватки або плазми + 990 мкл буфера для зразків. Також перемішайте розчин.

Для швидкого дозування під час процедури аналізу рекомендується підготовка калібраторів, контролів та зразків у мікропробірках для перенесення. Це дозволяє використовувати 8-канальну піпетку під час процедури аналізу.

Якщо зразки не аналізуються негайно, їх слід зберігати при температурі 2-8°C та аналізувати протягом 3 днів. Слід уникати повторного заморожування та розморожування зразків. Розморожені зразки необхідно перемішати перед розведенням.

8. ПРОЦЕДУРА ДОСЛІДЖЕННЯ

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

Для досягнення найкращих результатів, тобто максимального співвідношення між специфічним та фоновим сигналом, вкрай важливо ретельно промивати (кроки a, c та e). Вкрай важливо повністю видалити промивний розчин. Для цього щільно постукайте пластиною об кілька шарів абсорбуючої тканини. Автоматичні промивні машини необхідно перевіряти відповідно до результатів, отриманих шляхом ручного промивання.

a. Безпосередньо перед використанням промийте тверду фазу один раз: заповніть лунки по 350 мкл промивного буфера в кожну, дайте замочитися в лунках приблизно на 10 секунд та вийміть.

b. Швидко розлийте калібратори (по 2,0 мл кожен, готові до використання, поступово блакитні), контролі (по 2,0 мл кожен, готові до використання, зелений та червоний) та розведені зразки в мікролунки; 100 мкл на лунку. Рекомендується дублювати вимірювання.

Інкубуйте планшет протягом 30 хвилин за кімнатної температури (23 ± 3°C).

c. Промийте лунки 4 рази, як у кроці a.

d. Швидко (бажано за допомогою 8-канальної піпетки) дозуйте ферментний кон'югат (14 мл, готовий до використання, жовтий); 100 мкл на лунку. Інкубуйте планшет, як у кроці b.

e. Повторіть крок прання c.

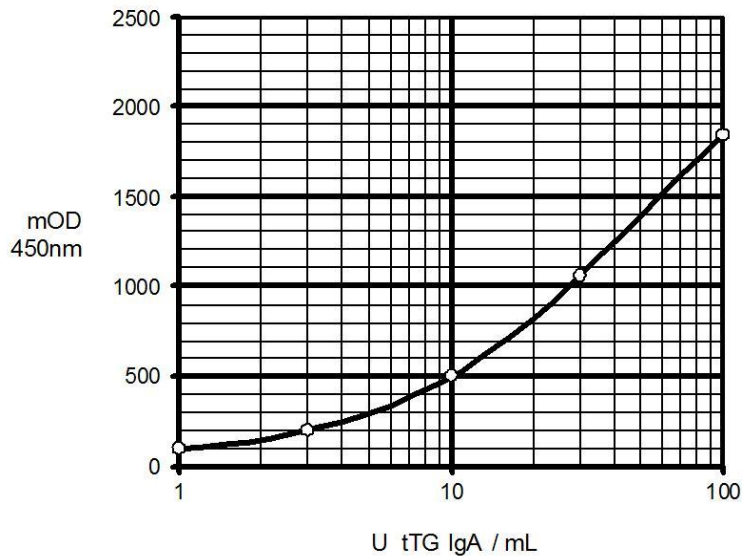
f. Швидко (бажано за допомогою 8-канальної піпетки) видавіть розчин субстрату (14 мл, готовий до використання, безбарвний, чорний флакон); 100 мкл на лунку. Інкубуйте планшет, як у кроці b. Оскільки субстрат є світлочутливим, уникайте інтенсивного впливу світла (наприклад, прямих сонячних променів) під час інкубації.

g. Швидко (бажано за допомогою 8-канальної піпетки) дозуйте стоп-розчин (14 мл, готовий до використання, безбарвний. Обережно: корозійний!); 100 мкл на лунку. Використовуйте ту саму послідовність, що й для субстрату. Колір змінюється з синього на жовтий. Збовтуйте планшет, бажано на орбітальному шейкері, протягом приблизно 10 секунд.

h. Негайно зчитайте поглинання у фотометрі мікропланшета при 450 нм. Охолодіть решту реагентів (2–8 °C), якщо вони будуть використані знову.

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 з контролями та фактичними зразками. Крива була побудована за допомогою звичайної програми оцінки ІФА з використанням 4-параметричної функції. Також підходить сплайн-апроксимація.



Якщо комп'ютерна оцінка неможлива, стандартну криву можна побудувати вручну. Вона дозволяє перетворити значення поглинання зразка на його концентрацію, тобто на Од tTG ІgА на мл зразка.

Якісна оцінка: тест також може бути оцінений якісним способом. Це вимагає вимірювання лише позитивного контролю. Тим не менш, рекомендується вимірювання та дослідження негативного контролю (див. нижче: контроль якості).

При оцінці якісних тестів поглинання зразків порівнюється з граничним значенням поглинання (= пороговим значенням). Його визначають за такою формулою:

$$\text{поглинання} = \text{коефіцієнт поглинання позитивного контролю} \times$$

Коефіцієнт залежить від партії набору та зазначений у сертифікаті аналізу для кожної партії, який додається до кожного тестового набору. Приклад:

$$\text{позитивний контроль поглинання} = 1250 \text{ мОД}$$

$$\text{коефіцієнт} = 0,35$$

$$\text{поглинання граничне} = 1250 \text{ мОД} \times 0,35 = 438 \text{ мОД}$$

Щоб отримати уявлення про те, наскільки позитивний певний зразок на tTG ІgА, можна розрахувати співвідношення за формулою:

$$\text{співвідношення} = \text{поглинання зразка} / \text{поглинання граничне}$$

Приклад:

$$\text{Поглинання граничне} = 438 \text{ мОД}$$

$$\text{поглинання зразка} = 1480 \text{ мОД}$$

$$\text{співвідношення} = 1480 \text{ мОД} / 438 \text{ мОД} = 3,4$$

Контроль якості: позитивний та негативний контролю перевіряють ефективність аналізу. Їхні дозволени значення та допустимі діапазони відповідно вказані у сертифікаті аналізу для кожної партії. Значення контролів повинні знаходитися в зазначених діапазонах; інакше результати аналізу вважаються недійсними.

10. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ / ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

На основі вимірювання крові донора та позитивного колективного аналізу сироваток (див. нижче) ми пропонуємо для оцінки сироваток пацієнтів:

	кількісна оцінка Од tTG IgA / мл Зразок	якісна оцінка співвідношення
нормальний (негативний) діапазон	< 2,6	< 0,89
порогове	3,0	1,00
неоднозначний діапазон	2,6 - 3,5	0,89 - 1,12
позитивний діапазон	> 3,5	> 1,12

Ці характеристики наведені лише для ознайомлення; для перевірки їхньої точності кожен аналіз повинен включати паралельні зразки нормальних сироваток.

Негативний результат тесту вказує на те, що у пацієнта немає підвищеного рівня антитіл IgA до tTG. Це не виключає можливості дефіциту IgA (8). У немовлят та дітей може ще не розвинутися відповідний рівень антитіл IgA. У цих випадках або якщо спостерігаються клінічні ознаки хвороби Крона, слід визначити антитіла IgG, спрямовані на модифікований гліадиновий пептид (MGP) та/або tTG. Позитивний результат слід розглядати як ознаку целиакії.

Зразки, результати яких знаходяться в межах вищезазначених граничних значень, слід вважати неоднозначними та повідомляти про них відповідно. Рекомендується зібрати другий зразок через два тижні та провести паралельне дослідження з першим зразком, щоб задокументувати можливу зміну титру антитіл.

Як і будь-який серологічний тест, результати слід інтерпретувати з урахуванням симптомів пацієнта та інших діагностичних критеріїв. Якщо детальніше, остаточний діагноз целиакії вимагає відповідності щонайменше наступним 3 критеріям:

- Серологічний тест: антитіла IgA до tTG у сироватці крові пацієнта;
- Гістологічне дослідження: біопсія та гістологічне дослідження згідно з класифікацією Оберхубера-Марша;
- Тест на харчування: ремісія (симптомів та серологічних знахідок) при дотриманні безглютенової дієти. Тому у пацієнта слід взяти зразки крові та провести моніторинг кілька разів протягом діагностичної фази (9-12).

Якщо один із цих критеріїв не відповідає, лікар повинен спиратися на офіційні рекомендації, щоб вирішити, які подальші кроки діагностики та лікування (13-16).

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ РОБОТИ**11.1. Стандартизація**

Тест стандартизовано за допомогою очищеного препарату сироватки, що містить антитіла IgA, спеціально спрямовані проти tTG. Цей препарат калібрується за набором сироваток з поступовим покращенням регуляції, призначених виключно для цієї мети.

Ступінь реактивності зразка вимірюється в умовних одиницях (Од/мл), оскільки міжнародний стандарт відсутній.

11.2. Аналітична специфічність

Тест дозволяє специфічне визначення людських антитіл IgA, спрямованих проти tTG.

Було протестовано взаємодію з антикоагулянтами (ЕДТА, цитрат, гепарин) у зразках, і жодних інтерференційних ефектів не спостерігалось.

11.3. Межа виявлення (аналітична чутливість)

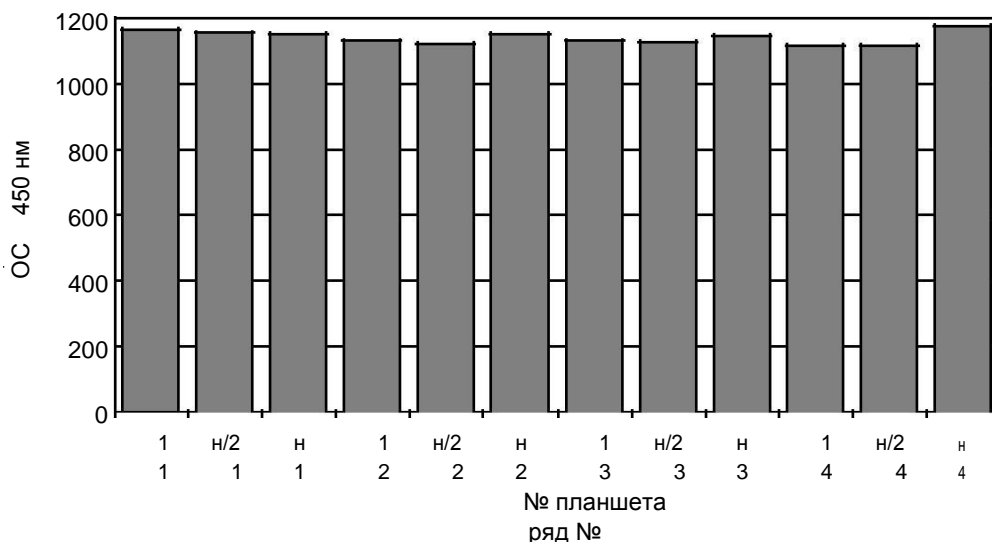
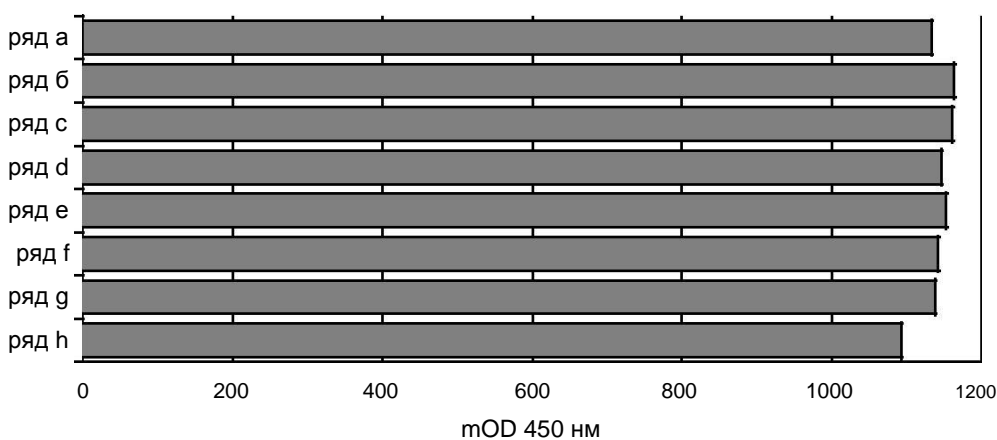
Межа виявлення визначається як концентрація аналіту, яка відповідає середній поглинання розчинника зразка плюс 3-кратне стандартне відхилення (s). Вона була визначена як < 0,1 U tTG IgA на мл зразка (n = 24). Рекомендований діапазон вимірювання: 0,5 - 100 Од / мл.

11.4. Однорідність твердої фази

Вимірювання однорідності твердої фази є звичайною частиною контролю якості кожної виробничої партії. Це визначається шляхом 288-кратного вимірювання IgA-позитивного, але ненасичуючого зразка на 3 вибраних планшетах. Критерій прийнятності: mOG-коефіцієнт варіації (cv) на пластинах < 8%.

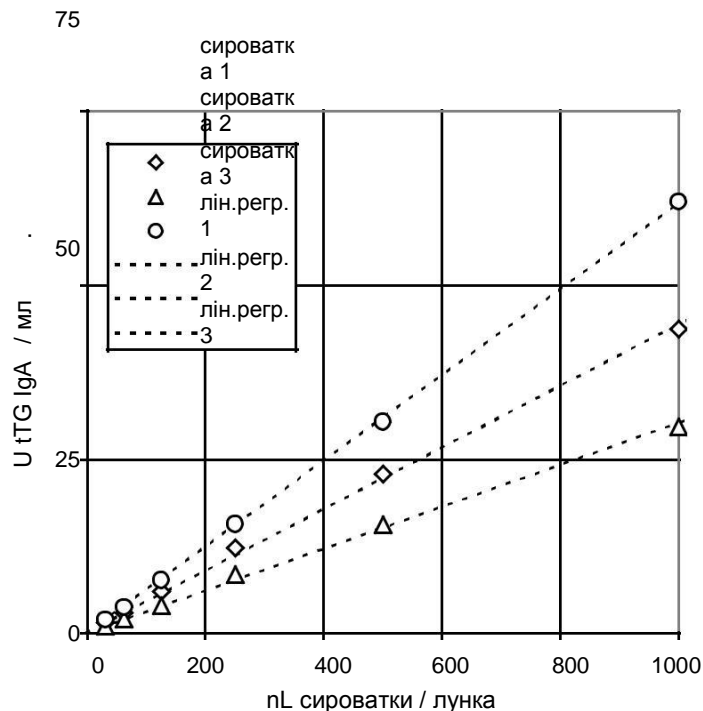
На рисунку нижче показано репрезентативний уривок (твердофазний аналіз, партія № 1211R) такого аналізу.

№ планшета	1			н/2			н			1			н/2			н			середнє	CV %
	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	4	4	4					
ряд а	1180	1141	1156	1121	1124	1145	1149	1109	1154	1077	1096	1157	1134	2,6						
ряд б	1189	1179	1166	1143	1146	1172	1151	1147	1172	1159	1152	1192	1164	1,5						
ряд с	1201	1180	1161	1133	1156	1170	1147	1143	1157	1160	1150	1174	1161	1,6						
ряд d	1167	1151	1164	1134	1138	1158	1143	1120	1142	1134	1136	1168	1146	1,3						
ряд е	1194	1165	1158	1138	1147	1173	1141	1146	1164	1117	1135	1164	1154	1,8						
ряд f	1137	1149	1162	1139	1109	1158	1135	1132	1159	1127	1120	1181	1142	1,8						
ряд g	1154	1158	1162	1133	1093	1144	1120	1134	1146	1131	1098	1189	1139	2,4						
ряд h	1095	1116	1096	1094	1064	1096	1082	1089	1094	1050	1068	1167	1093	2,7						
середній коефіцієнт варіації (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	1142	2,7						



11.5. Лінійність

Для оцінки залежності «доза-відповідь» тесту, позитивні сироватки вимірювали у серійному двократному розведенні. Критерій прийнятності: лінійна регресія 4 послідовних розведень повинна дати коефіцієнт кореляції > 0,98. Типовий результат зображено нижче.



11.6. Точність

Для оцінки точності тесту було визначено варіабельність результатів за таких умов: а. в межах 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	3,2	4,5	4,8
2	9,5	6,1	6,2
3	29,1	6,4	6,8

б. Мінливість між операторами (n = 12)

зразок	середнє Од/мл	мінливість (cv, %)
1	2,6	3,2
2	8,3	2,9
3	23,0	5,7

с. Варіабельність між 2 партіями наборів (n = 6)

зразок	середнє Од/мл	мінливість (cv, %)
1	5,4	4,3
2	14,0	3,0
3	33,9	8,9

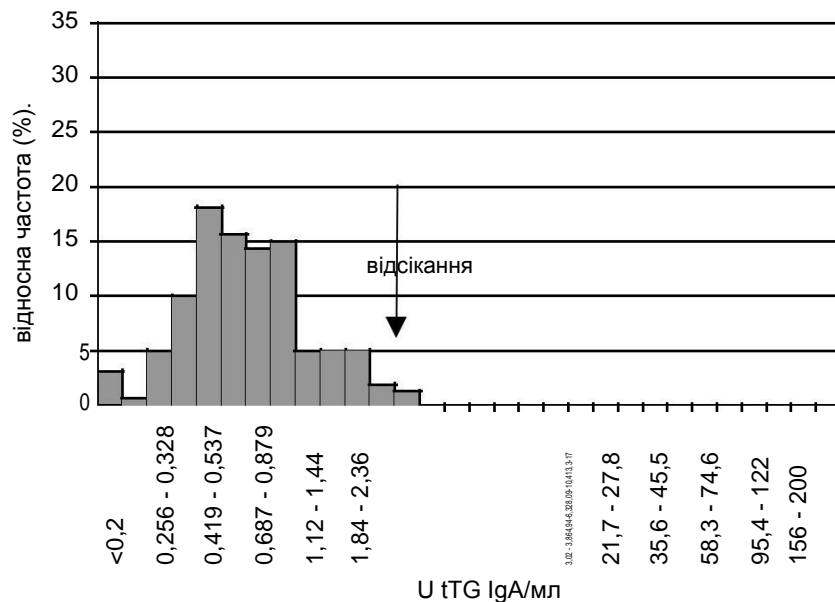
11.7. Розподіл частоти tTG ІgА

Це було проаналізовано в колективі сироваток крові донорів, рівномірно розподілених за статтю та віком, а також у колективі сироваток, виявлених позитивними на антитіла до гліадину (ІgА) згідно з еталонним ІФА, що відповідає стандартам СЕ. Спостерігався наступний розподіл аналізу:

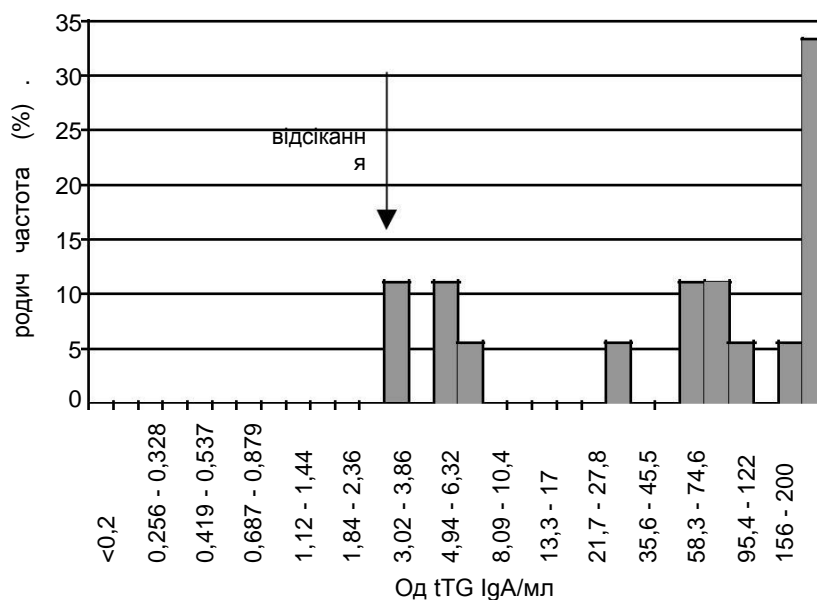
сироватки донорів крові	позитивні сироватки
н: 160	н: 18 років
середнє: 0,8 Од/мл	середнє: 150,8 Од/мл
середнє + s: 1,5 Од/мл	середнє - s: < 0 Од/мл
середнє + 2s: 2,1 Од/мл	середнє - 2 s: < 0 Од/мл
медіана: 0,6 Од/мл	медіана: 85,3 Од/мл
95-й процентиль: 2,2 Од/мл	5-й процентиль: 3,1 Од/мл

ROC-аналіз цих даних був використаний для визначення порогового значення 3,0 Од/мл (17). Наведені тут дані свідчать про діагностичну специфічність та чутливість ІФА приблизно 99% та майже 100% відповідно. Ці значення стосуються лише виміряних сироваток; інші колективні проби можуть давати інші результати. З огляду на низьку кількість позитивних сироваток, потрібна особлива обережність при інтерпретації чутливості тесту.

сироватки донорів крові



позитивні сироватки



12. ДЕКЛАРАЦІЯ

IBL International GmbH. Компанія IBL гарантує, що поставлений продукт був ретельно протестований на відповідність його властивостям, зазначеним у цьому документі. Подальші гарантії не надаються. Дані про продуктивність, представлені тут, були отримані з використанням зазначеної процедури. Будь-яка зміна процедури може вплинути на результати, і в такому разі IBL відмовляється від усіх гарантій, явних, неявних чи передбачених законом. Крім того, IBL не несе відповідальності за будь-які збитки, прямі, непрямі чи побічні, що виникли внаслідок неправильного використання або зберігання продукту.









13. ПОСИЛАННЯ

1. Mäki, M., Collin, P.: Целиакія. *Lancet* 349 (1997), 1755 - 1759
2. Ліндберг, Т. та ін.: Сироваткові антитіла IgA та IgG до гліадину та пошкодження слизової оболонки тонкого кишечника у дітей. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 4 (1985), 917-922
3. Бодє, С. та ін.: Діагностична цінність тесту на антитіла до гліадину при целиакії у дітей – проспективне дослідження. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 17 (1993), 260-264
4. Катассі, К. та ін.: Скринінг антигліадинових антитіл для виявлення целиакії. *Acta Paediatr Scand* 83 (1994), 349-350
5. Бодє, С., Гудманд-Хойєр, Е.: Оцінка тесту на антитіла до гліадину для діагностики целиакії. *Scand J Gastroenterol* 29 (1994), 148-152
6. Віторія, Дж. К. та ін.: Використання серологічних маркерів як скринінгового тесту у членів сімей пацієнтів з целиакією. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 19 (1994), 304-309
7. Дітеріх, В. та ін.: Ідентифікація тканинної трансглютамінази як аутоантигену целиакії. *Nature Med* 3 (1997), 797–801
8. Коллін, П. та ін.: Селективний дефіцит IgA та целиакія. *Scand J Gastroenterol* 27 (1992), 367-371
9. Марш, Міннесота: Глютен, головний комплекс гістосумісності та тонкий кишечник. Молекулярний та імунологічний підхід до спектру чутливості до глютену («целиакія»). *Гастроентерологія* 102/1 (1992), 330-354
10. Обєрхубєр, Г. та ін.: Гістопатологія целиакії: час для стандартизованої схеми звітності для патологоанатомів. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11/10 (1999), 1185-1194
11. Oberhuber, G., et al.: Empfehlungen zur Zöliakie-/Spruediagnostik. Arbeitsgemeinschaft für gastroenterologische Pathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie. *Pathologie* 22/1 (2001), 72 - 81
12. 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
13. von Arnim, U., Canbay, A.: Zöliakie – Pathogenes, Epidemiologie, Diagnostik und Therapie. *Гастроентерологія* 13 (2018), 143 – 153
14. Felber, J. та ін.: 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
15. Шуппан, Д., Ціммер, К.: Діагностика та лікування целиакії. *Dtsch Arztebl Int* 110/49 (2013), 835–846
16. Тонутті, Е., Біццаро, Н.: Діагностика та класифікація целиакії та чутливості до глютену. *Autoimmunity Reviews* 13 (2014), 472–476
17. Зоммер, Р., і Ейтельбергер, Ф.: Wertigkeit der Gliadin-Antikörper im Serum zur Diagnose der Zöliakie. *Wien Klin Wochenschr* 104/4 (1992), 86 - 92

14. ЗВЕДЕНА БЛОК-СХЕМА

- a. Розведіть зразки у співвідношенні 1/100 у розчиннику для розведення зразків (100 мл, готовий до використання, помаранчевий) та перемішайте.
- b. Розведіть 10-кратний концентрат промивного буфера (100 мл, синього кольору) водою та перемішайте.
- c. Промийте лунки один раз по 350 мкл промивного буфера в кожну. Додайте по 100 мкл калібраторів (по 2,0 мл кожного, готові до використання, поступово сині) та контролів (по 2,0 мл кожного, готові до використання, зелений та червоний), а також розведених зразків у лунки твердої фази. Рекомендується повторити вимірювання. Інкубуйте протягом 30 хвилин за кімнатної температури ($23 \pm 3^{\circ}\text{C}$).
- d. Промийте лунки 4 рази по 350 мкл промивного буфера кожну.
- e. Внесіть по 100 мкл кон'югату (14 мл, готовий до використання, жовтий) у лунки. Інкубуйте, як у кроці c.
- f. Повторіть крок промивання d.
- g. Розподіліть по 100 мкл розчину субстрату ТМБ (14 мл, готовий до використання, чорний флакон) у кожну лунку. Інкубуйте, як у кроці c. Потім додайте по 100 мкл стоп-розчину (14 мл, готовий до використання, безбарвний) у кожну лунку та швидко струсіть планшет.
- h. Негайно виміряйте поглинання при 450 нм.
- i. Кількісна оцінка: визначають стандартну криву та, використовуючи цю криву, перетворюють поглинання зразків у відповідну концентрацію антитіл (од/мл).
- j. Якісна оцінка: визначте граничне поглинання, помноживши поглинання позитивного контролю на коефіцієнт, зазначений у сертифікаті аналізу. Потім обчисліть співвідношення зразків, поділивши їх поглинання на граничне поглинання.


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 ВКАЗАНОВОГО (-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, Німеччина	E-MAIL:	IBL@IBL-International.com
		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