




Інструкція із застосування

Протеїназа 3, антитіла IgG (с-ANCA), «захват антитіл» ІФА

Імуноферментний аналіз для якісного та кількісного визначення антитіл IgG проти протеїнази 3 (с-ANCA) (версія із захопленням) у сироватці або плазмі людини (ЕДТА, цитрат або гепарин).

REF 30112111

 **12x8**

  **2°C**  **8°C**

EU: **IVD**  



IBL International GmbH
Флугафенштрассе, 52а
22335 Гамбург, Німеччина

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

Always there for you



1. ОГЛЯД

1.1 Вступ та передумови

Антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла (ANCA), спочатку ідентифіковані за допомогою імуофлуоресцентних аналізів (ІФА), спрямовані проти цитоплазматичних компонентів нейтрофільних гранулоцитів та моноцитів. Вони виявилися корисним серологічним маркером для низки системних аутоімунних васкулітів (1, 2, 3).

Зернистий цитоплазматичний (с-ANCA) характер забарвлення нейтрофільного субстрату свідчить про наявність аутоантитіл проти протеїнази 3 (PR3), серинової протеїнази з молекулярною масою 29 кДа, присутньої в азурофільних гранулах гранулоцитів та моноцитів людини (4, 5).

Антитіла до PR3 зустрічаються у пацієнтів з гранулематозом Вегенера (ГВ), системним васкулітом, що вражає дихальні шляхи (5). Їх специфічність становить близько 95%, а чутливість залежить від фази та активності захворювання (6).

Цей імуоферментний аналіз (ІФА) призначений для кількісного або якісного визначення антитіл IgG у сироватці або плазмі людини (див. розділ 7), спрямованих проти PR3. Він калібрований відповідно до міжнародного стандарту серології PR3, AF-CDC (референтна сироватка людини 16, код IS2721). Імобілізований антиген являє собою високоочищений препарат PR3, виділений з гранулоцитів людини.

Протягом останніх років було показано, що метод захоплення антигену за допомогою імобілізації досягає покращеної чутливості порівняно зі звичайною (адсорбційною) фіксацією (7, 8, 9). Цей метод ІФА використовує переваги цього методу, з додатковою особливістю, що молекула PR3 експонується у двох чітко різних орієнтаціях. Тест швидкий (час інкубації 30/30/30 хвилин) та гнучкий (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 із захопленням PR3 IgG – це імуоферментний аналіз (ІФА), призначений для кількісного або якісного визначення антитіл класу IgG, спрямованих проти протеїнази 3 (PR3), у зразках сироватки або плазми людини. Його функція полягає в допомозі в диференціальній діагностиці різних аутоімунних васкулітичних захворювань, що характеризуються підвищеним рівнем антитіл до цитоплазми нейтрофілів (ANCA), таких як гранулематоз Вегенера та інші васкуліти.

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 (НВs) 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 покриваються PR3 за допомогою спеціальної техніки захоплення. На цій поверхні відбуваються такі імунологічні реакції:

1-ша реакція: PR3-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 IgG-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 PR3 IgG у зразку.

4. ВМІСТ НАБОРУ

- a. **Мікропланшет МТР**, покритий PR3 та герметично упакований у фольгований ламінований пакет разом із пакетом-осушувачем. Планшет складається з 12 стріпів, кожен з яких можна розламати на 8 окремих лунок.
- b. **ENZCONJ IgG Ферментний кон'югат IgG** (Кон'югат антитіл IgG людини з пероксидазою рани (HRP), 14 мл, готовий до використання, червоного кольору. Буферний розчин, що містить стабілізуючий білок, метилізотіазолінон та бромнітродіоксан.
- c. **CAL AF Калібратор AF**, 2,0 мл кожна, 0 – 1,0 – 3,0 - 10 - 30 та 100 МО PR3 IgG/мл, готові до використання, поступово забарвлюються в синє. 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.
- g. **Розчин субстрату TMB SUBS TMB**, 14 мл, готовий до використання, безбарвний. Містить буферний розчин ТМБ та H₂O₂. Зберігається у флаконі, непроникному для світла.
- c. **WASHBUF Концентрований промивний буфер**, 100 мл, 10-кратний концентрат, синього кольору. Містить TBS, Tween та бромнітродіоксан.
- h. **СТОП ТМБ Стоп розчин** (0,2 М 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. 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)

6. ЗБЕРІГАННЯ НАБОРУ

Зберігайте набір при температурі від 2 до 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, синього кольору) 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. Крім 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 розчинника для розведення 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.

Концентрації біотину до 150 мкг/мл у нерозведеному зразку не заважають проведенню аналізу.

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 планшетом 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 кон'югат (14 мл, готовий до використання, червоний); 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.

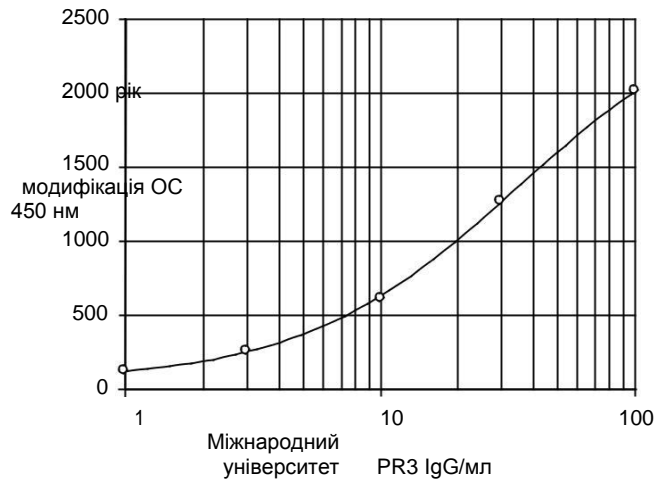
g. Швидко (бажано за допомогою 8-канальної піпетки) дозуйте стоп-розчин (14 мл, готовий до використання, безбарвний. Обережно: корозійний!); 100 мкл на лунку. Використовуйте ту саму послідовність, що й для субстрату. Колір змінюється з синього на жовтий. Збовтуйте планшет, бажано на орбітальному шейкері,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

h. Негайно зчитайте поглинання у фотометрі мікропланшета при 450 нм.

Якщо ви плануєте використовувати решту реагентів, охолодіть їх при температурі від 2 до 8°C.

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 МО PR3 IgG 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).

Він визначається за такою формулою:

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

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

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

$$\text{коефіцієнт} = 0,35$$

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

Щоб отримати уявлення про те, наскільки позитивний певний зразок на PR3 IgG, можна розрахувати співвідношення за формулою:

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

Приклад:

$$\text{поглинання} = 438 \text{ мОД}$$

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

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

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:

Оцінювання	кількісний МО PR3 IgG/мл зразка	якісний співвідношення
нормальний (негативний) діапазон	< 1,7	< 0,88
порогове	2.0	1.00
сумнівний діапазон	1,7 – 2,4	0,88 – 1,14
позитивний діапазон	> 2.4	> 1,14

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 IgG до PR3. Це не виключає наявності аутоантитіл проти інших нейтрофільних антигенів (наприклад, CAP 57), які можуть бути відповідальними за цитоплазматичний патерн забарвлення в аналізі IFA, але зазвичай не є діагностичними для васкулітів, пов'язаних з PR3.

Оскільки антитіла до PR3 рідко виявляються у здорових людей, позитивний результат слід розглядати як показання до проведення вісцерального гемостазу. Однак тест має бути позитивним принаймні у двох випадках з інтервалом у кілька тижнів. Рідше (поширеність < 50 %, залежно від методології) антитіла до PR3 зустрічаються у пацієнтів з мікроскопічним поліангіїтом та синдромом Чарга-Штрауса (6).

Зразки, результати яких знаходяться в межах вищезазначеного граничного діапазону, слід вважати сумнівними 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.

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ РОБОТИ**11.1. Стандартизація**

Тест стандартизовано очищеною сироваткою, що містить антитіла IgG, спеціально спрямовані проти PR3. Цей препарат калібровано відповідно до міжнародного стандарту серології PR3, AF-CDC (референтна сироватка людини 16, код IS2721). Ступінь реактивності зразка вимірюється в міжнародних одиницях (МОд/мл).

11.2. Аналітична специфічність

Тест дозволяє специфічне визначення антитіл IgG людини, спрямованих проти PR3.

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

11.3. Межа виявлення (аналітична чутливість)

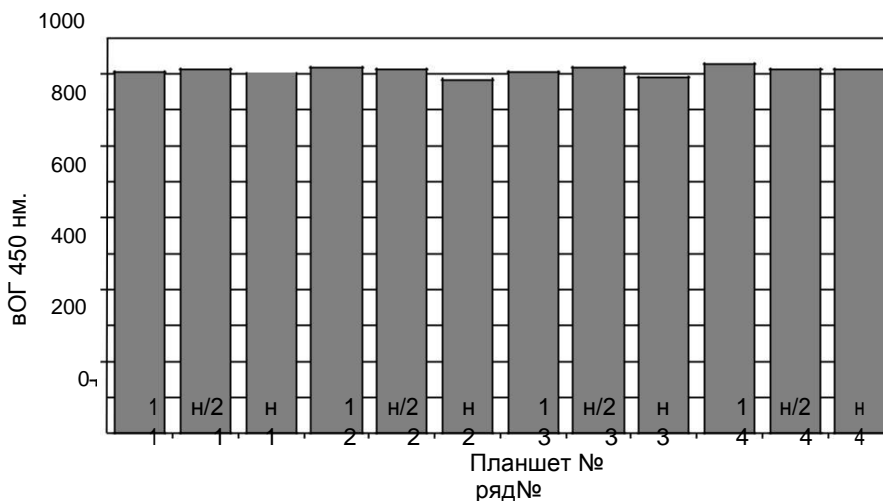
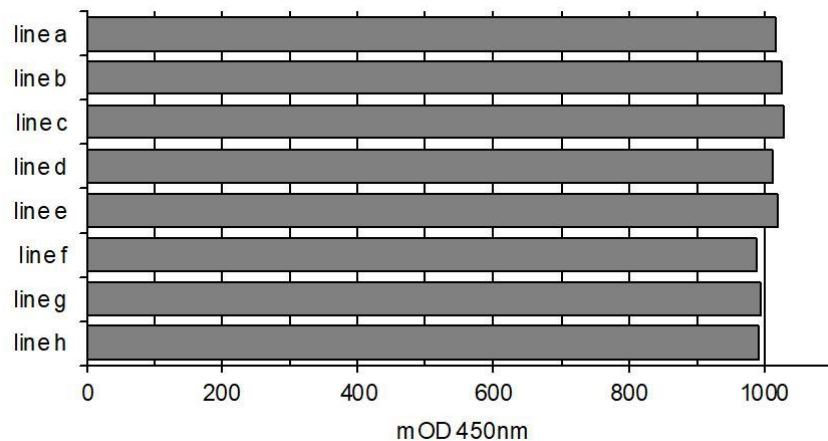
Межа виявлення визначається як концентрація аналіту, яка відповідає середній поглинанню розчинника зразка плюс 3-кратне стандартне відхилення (s). Вона була визначена як < 0,2 МОд PR3 IgG на мл зразка (n = 24).

Рекомендований діапазон вимірювання: 0,3 - 50 МОд/мл (див. розділ 11.5)

11.4. Однорідність твердої фази

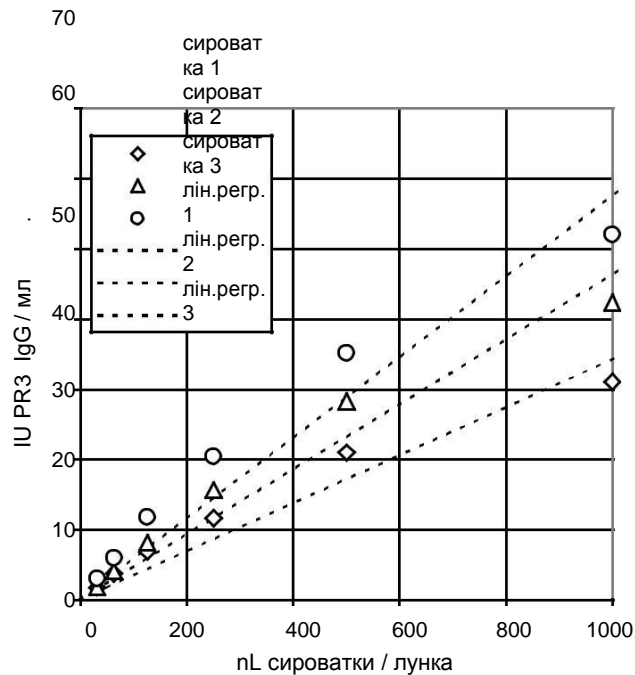
Вимірювання однорідності твердої фази є звичайною частиною контролю якості кожної виробничої партії. Це визначається шляхом 288-кратного вимірювання позитивного, але ненасиченого зразка на 3 вибраних планшетах. Критерій прийнятності: вОГ-коефіцієнт варіації (cv) на планшетах < 8%. На рисунку нижче показано репрезентативний уривок (партія твердої фази № 13060) такого аналізу.

планшет ряд	1			n/2			n			1			n/2			n			серед не	CV %
	1	n/2	n	1	n/2	n	1	n/2	n	1	n/2	n	1	n/2	n	1	n/2	n		
ряд а	1003	1023	1022	1011	1023	974	1017	1045	1015	1034	1020	1036	1019	1.8						
ряд б	1031	1021	1000	1027	1048	1006	1036	1047	1001	1050	1022	1026	1026	1.7						
ряд с	1000	1039	1014	1032	1038	1008	1028	1053	1008	1062	1042	1014	1028	1.9						
ряд d	1020	1027	992	1031	1035	989	985	1013	999	1019	1010	1012	1011	1.6						
ряд е	1038	1032	1031	1024	1018	988	1017	1032	987	1030	1041	1012	1021	1.7						
ряд f	965	990	956	1004	987	973	995	998	986	1010	996	1001	988	1.6						
ряд g	1003	981	1005	996	985	973	996	997	962	1035	1006	995	995	1.9						
ряд h	1007	986	998	1035	991	960	1008	979	961	1013	982	999	993	2.2						
серед ній коефіц ієнт варіац ії (cv, %)	1008	1012	1002	1020	1016	984	1010	1021	990	1032	1015	1012	1010	2.3						



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. Очевидно, що приблизно лінійна залежність між дозою та відповіддю обмежується результатами < 30 МОд/мл.

**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	середній МОд/мл	варіабельність (cv, %) В аналізі між аналізами	
1	10.4	3.8	5.5
2	23.8	4.6	7.4
3	35.7	4.4	4.4

б. Варіабельність між операторами (n = 12)

зразок	середнє МОд/мл	варіабельність (cv, %)
1	11.4	4.6
2	25.7	6.8
3	36.9	4.2

с. Варіабельність між 2 партіями наборів (n = 12)

зразок	середнє МОд/мл	варіабельність (cv, %)
1	10.7	3.6
2	23.8	6.0
3	35.5	5.1

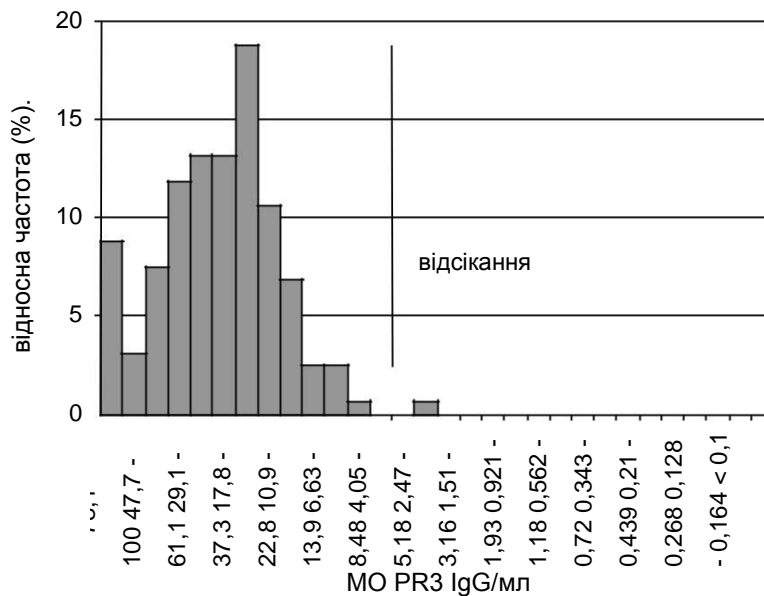
11.7. Розподіл частоти PR3 IgG

Це було проаналізовано в колективі сироваток донорів крові, рівномірно розподілених за статтю та віком, а також у колективі сироваток, які мали позитивний результат у різних кільцевих дослідженнях або були клінічно визначені та/або визнані позитивними на аутоантитіла до PR3 IgG згідно з затвердженим FDA та сумісним з СЕ референтним ІФА. Спостерігався наступний розподіл аналіту:

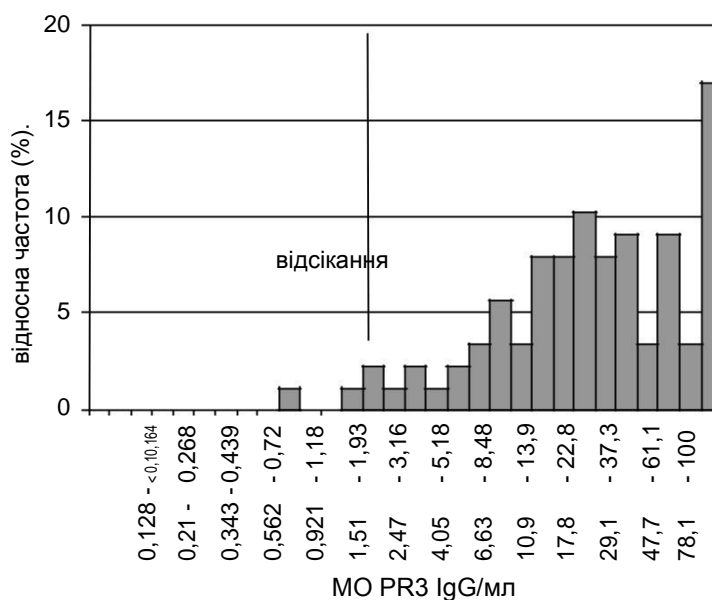
сироватки донорів крові		позитивні сироватки	
n:	160	n:	88
Середнє значення:	0,4 МОд/мл	Середнє значення:	102 МОд/мл
середнє значення + s:	0,7 МОд/мл	Середнє значення - s:	< 0 МОд/мл
середнє значення + 2s:	1,0 МОд/мл	Середнє значення - 2 s:	< 0 МОд/мл
медіана:	0,3 МОд/мл	медіана:	29.3 МОд/мл
95-й процентиль:	0,8 МОд/мл	5-й процентиль:	2.9 МОд/мл

ROC-аналіз цих даних був використаний для визначення порогового значення 2,0 МОд/мл (10). Наведені тут дані свідчать про діагностичну специфічність та чутливість ІФА 99% та 98% відповідно. Ці значення стосуються лише виміряних сироваток; інші колективні проби можуть давати інші результати.

сироватки донорів крові



позитивні сироватки



12. ДЕКЛАРАЦІЯ

Компанія IBL International GmbH (IBL) гарантує, що поставлений продукт був ретельно перевірений 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. Ван дер Вуде, Ф.Й. та ін.: Аутоантитіла до нейтрофілів та моноцитів: новий інструмент для діагностики та маркер активності захворювання при гранулематозі Вегенера. *Lancet* 1985,425-429
2. Фальк, Р. Дж., Дженетт, Дж. К.: Гранулематоз Вегенера, системний васкуліт та антинейтрофільні цитоплазматичні аутоантитіла. *Annu Rev Med* 42 (1991), 459-469
3. Гросс, В.Л. та ін.: Імунодіагностичне та імунопатогенне значення антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл. *Dtsch Med Wochenschr* 118 (1993), 191-199
4. Людемманн, Й. та ін.: Антитіла до цитоплазми нейтрофілів при гранулематозі Вегенера розпізнають еластінолітичний фермент. *J Exp Med* 171 (1990), 357-361
5. Гросс, В.Л. та ін.: Антинейтрофільні цитоплазматичні аутоантитіла зі специфічністю до протеїнази 3. У: Пітер, Дж. Б., Шенфельд, Ю. (ред.): Аутоантитіла (1996), 61–67, Elsevier, Амстердам
6. Радіче, А. та ін.: Антинейтрофільні цитоплазматичні аутоантитіла зі специфічністю до протеїнази 3. У: Шенфельд, Ю. та ін. (ред.): Аутоантитіла (2007), 105-110, Elsevier, Амстердам
7. Вестман, К. та ін.: Клінічна оцінка захоплення ІФА для виявлення протеїнази 3 проти цитоплазматичних антитіл нейтрофілів. *Kidney Int* 53 (1998), 1230-1236
8. Гіслен, К. та ін.: Зв'язок між ANCA, визначеним за допомогою звичайного методу зв'язування та захоплення, та довгостроковим клінічним перебігом васкуліту. *I. Intern Med* 251 (2002), 129-135
9. Чернок, Е. та ін.: Критична оцінка комерційних імуноферментних аналізів на антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла, спрямовані проти протеїнази 3 та мієлопероксидази при гранулематозі Вегенера та мікроскопічному поліангіїті. *Rheumatol* 41 (2002), 1313-1317
10. 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 блакитні) 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. Розподіліть по 100 мкл кон'югату (14 мл, готовий до використання, червоний) у лунки. Інкубуйте, як у кроці с.
- f. Повторіть крок промивання d.
- g. Розподіліть по 100 мкл розчину субстрату (14 мл, готовий до використання, чорний флакон) на лунку. Інкубуйте, як у кроці с. Потім додайте по 100 мкл стоп-розчину (14 мл, готовий до використання, безбарвний) на лунку та короткочасно струсіть планшет.
- h. Негайно виміряйте поглинання при 450 нм.
- i. Кількісна оцінка: визначте стандартну криву та, використовуючи цю криву, перетворіть поглинання зразків у відповідну концентрацію антитіл (МОд/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 подалі 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 Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург, Німеччина	Тел. : + 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11 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. 19А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

IBL International GmbH



Флюгафенштрассе, 52а
22335 Гамбург, Німеччина

Телеф

он: +49 (0)40-53 28 91-0
Факс: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@tecan.com
www.tecan.com/ibl

Always there for you