



**Інструкція**  
**з використання тест-системи**  
**для визначення загального імуноглобуліну М в сироватці крові**  
**IgM-IΦA**

IN VITRO

Зберігати при 4-10°C

**Принцип методу**

У наданій тест-системі використовується принцип двосайтового імуноферментного аналізу (сендвіч-метод). У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-IgM-антитіла) вносять досліджуваний зразок. IgM із зразка зв'язується з антитілами на поверхні лунки. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. У лунку вносять кон'югат (другі анти-IgM-антитіла, мічені пероксидазою). Після повторної відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату, та вимірюється при довжині хвилі 450 нм.

Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості IgM загального у зразку.

**Клінічне значення**

Імуноглобуліни являються показниками гуморального імунітету. Секретуються В-клітинами на кінцевій стадії їх диференціювання, тобто плазматичними клітинами. IgM першим виробляється у відповідь на гостру інфекцію та з'являється в кров'яному руслі, забезпечуючи первинний імунітет. Збільшення рівня спостерігається при гостром інфекційному процесі всіякого генеза (вірусні, бактеріальні, паразитарні, грибкові захворювання), при гострих вірусних гепатитах, аутоімунних захворюваннях, пієлонефриті. Зниження рівня відбувається при хронічній вірусній інфекції, захворюваннях, які виснажують імунну систему. До класу імуноглобулінів М відносять ревматоїдний фактор.

**Склад набору**

1. Планшет з іммобілізованим антигеном (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. IΦA буфер, 33 мл (3 фл.)
4. Набір калібраторів та контролю по 1 мл (всього 5 калібраторів: 0, 0.5, 2, 5, 10 г/л; 1 контроль)
5. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
6. Кон'югат, 11 мл (1 фл.)
7. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
8. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

**Аналітичні характеристики**

Лінійність вимірювального діапазону: 0.5-10 г/л. Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Чутливість методу: 0.06 г/л.

Очікуванні коливання контролю: 1.3-2 г/л.

**Матеріал для дослідження**

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°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 планшета, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-х діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.

3. Підготовка досліджуваних зразків: розведіть зразки в 5000 разів використовуючи IΦA буфер червоний. Для цього в пробирку №1 додайте 10 мкл зразку та 990 мкл IΦA буферу (розведення 1:100). До пробирки №2 додайте 10 мкл вмісту пробирки №1 та 490 мкл IΦA буферу (розведення 1:5000). Спосіб розведення для інших видів матеріалу зазначен у таблиці 1. Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібровочної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи IΦA буфер. Не розбавляйте калібратори та контроль!

Таблиця 1.

Матеріал	Приклад розведення	IΦA буфер в лунку, мкл	Зразок в лунку, мкл	Фактор перерахунку
сироватка (плазма) крові	В пробирку №1: 10 мкл зразку + 990 мкл IΦA буферу. В пробирку №2: 10 мкл вмісту пробирки №1 + 490 мкл IΦA буферу.	0	100	1
слина		90	10	0.002
сеча		50	50	0.0004
спинномозкова рідина		80	20	0.001

### Проведення аналізу

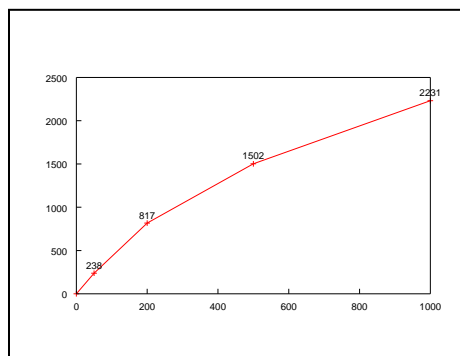
1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторах.
2. Внесіть у лунки 100 мкл калібраторів, контролю. При дослідженні сироватки (плазми) крові внесіть 100 мкл розведених зразків (Розведення 2).
3. Інкубуйте 30 хвилин при температурі 37°C.
4. Відмийте стрипи 3 рази відмиваючим розчином.
5. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
6. Інкубуйте 30 хвилин при температурі 37°C.
7. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
8. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
9. Інкубуйте 15-20 хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
10. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
11. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти нульового калібратора.
12. Використовуйте кусково-лінійний метод обчислювання значень.
13. Визначте концентрацію IgM загального в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої. Якщо дослідний зразок предрозводили, отриманий результат треба помножити на фактор перерахунку.

### 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 відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко перегорніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

### Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, г/л; вісь Y – ОЩ)

Не використовувати для обчислювання



**Референтні величини**

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користатися 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.

Стать, вік	Концентрація, г/л	
	Нижня межа	Верхня межа
новонароджені	0.1	0.35
1-3 місяця	0.12	0.9
4-6 місяців	0.25	1.2
7-12 місяців	0.35	1.0
1-6 років	0.55	2.2
7-11 років	0.65	1.7
здорові донори	0.7	3.7

**Вимоги безпеки**

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластинок проводити згідно з наказом МОЗ України від 11.08.2014 р. № 552 «Про затвердження Державних санітарних норм та правил «Дезінфекція, передстерилізаційне очищення та стерилізація медичних виробів в закладах охорони здоров'я».

**Зберігання та стабільність**

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 12 міс. з дня виготовлення набору.