

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 загального імуноглобуліну Е в сироватці крові
IgE - ІФА
IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип двосайтового імуноферментного аналізу (сендвіч-метод). У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-IgE-антитіла) вносять досліджуваний зразок. IgE загальний із зразка зв'язується з антитілами на поверхні лунки. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. У лунку вносять кон'югат (другі анти-IgE-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 IgE загального у зразку.

Клінічне значення

IgE синтезується плазматичними клітинами, що локалізуються у слизових оболонках. Здатен зв'язувати алерген з поверхню базофілів (крові й тканин) та еозинофілів людини, викликаючи дегрануляцію клітин, виділення гістаміну та інших медіаторів. При інтенсивній дегрануляції можуть розвинути симптоми алергії за механізмом гіперчутливості негайного типу як місцева запальна реакція, що виявляється у вигляді риніту, висипу або формується системна реакція у вигляді анафілактичного шоку. Крім участі в алергійних реакціях I (негайного) типу, IgE бере участь у захисному противогельмінтному імунітеті, що обумовлено існуванням перехресного зв'язування між IgE і антигеном гельмінтів.

Показання до визначення загального IgE – алергічні стани, системні мікози, інвазії гельмінтів. Збільшення рівня загального IgE відбувається при алергічному риніті, бронхіальній астмі, атопічному дерматиті, алергічній гастроентеропатії, анафілактичній хворобі, лікарській алергії (переважно на пеніциліни і білкові препарати), кропивниці, гельмінтозах, гіпер-IgE синдромі (синдром Джоба), IgE-міеломі, реакції "трансплантат проти хазяїна" та ін. При всіх перерахованих вище станах вироблення високих титрів специфічних антитіл класу IgE може призводити до підвищення рівня загального IgE в сироватці. Зниження рівня загального IgE в сироватці - явище рідкісне і маловивчене, описано при гіпогамглобулінемії, деяких ауто імунних захворюваннях, виразковому коліті та первинному біліарному цирозі.

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. ІФА буфер, 6 мл (1 фл.)
4. Набір калібраторів та контролю по 0.5 мл (всього 5 калібраторів: 0, 50, 200, 500, 1000 МОд/мл; 1 контроль)
5. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

6. Кон'югат, 11 мл (1 фл.)
7. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
8. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 6 МОд/мл.

Очікуванні коливання контролю: 60-100 МОд/мл.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

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

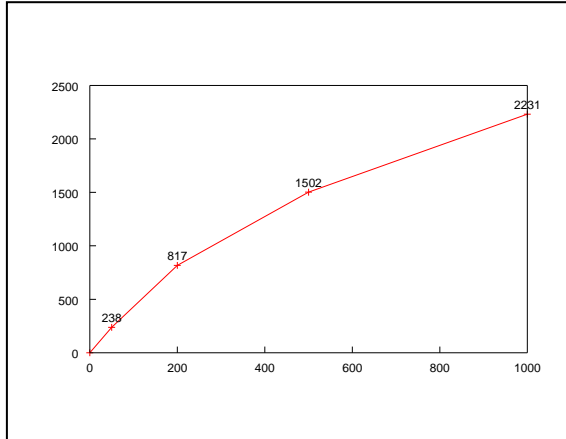
Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 50 мкл ІФА буферу.
3. Внесіть у лунки 50 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
4. Інкубуйте 30 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 3 рази відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
7. Інкубуйте 30 хвилин при температурі 37°C.
8. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
9. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
10. Інкубуйте 15-20 хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
11. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
12. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти нульового калібратора.
13. Використовуйте кусково-лінійний метод обчислювання значень.
14. Визначте концентрацію IgE загального в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

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 переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, МОд/мл; вісь Y – ОЩ)
Не використовувати для обчислювання!



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.

Стать, вік	Концентрація, МОд/мл		Концентрація, пг/мл	
	Нижня межа	Верхня межа	Нижня межа	Верхня межа
< 6 місяців		12		25.8
6-12 місяців		30		64.5
1-3 років		45		96.8
4-6 років		70		150.5
7-9 років		90		193.5
10-15 років		120		258
>15 років	15	130	32.3	279.5

Перехід в додаткові одиниці: 1 МОд/мл = 2.15 пг/мл.

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».

Зберігання та стабільність

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°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 загального імуноглобуліну Е в сироватці крові

IgE - ІФА

IN VITRO

Серія **708**

Дата виготовлення **26.12.2012**

Термін придатності **26.06.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	Чутливість не менш, МОд/мл	6		відповідає
1.2	Очікувані коливання контролю, МОд/мл	60-100		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	ІФА буфер	синій	1 фл. х 6 мл	відповідає
2.4	Набір калібраторів та контролю (всього 5 калібраторів: 0, 50, 200, 500, 1000 МОд/мл; та 1 контроль)	червоний	6 фл. х 0.5 мл	відповідає
2.5	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. х 22 мл	відповідає
2.6	Кон'югат	червоний	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.7	Субстрат	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.8	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