

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНА E

1801-16, Immunoglobulin E (IgE)

Каталог. № : 1801-16

Методика от 05-2008

Количество : 96

Производитель: DAI (США)



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор является ИФА для количественного определения концентрации иммуноглобулина E (IgE) в человеческой сыворотке.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Пациенты с аллергическими заболеваниями, такими как аллергическая астма, аллергический дерматит и некоторые другие, показывают взаимосвязь с увеличением уровня общего иммуноглобулина в крови. IgE также известен как антитело, способное к реакциям. Вообще, рост уровня IgE указывает на увеличение не прямой гиперчувствительности к IgE, что ответственно за аллергические реакции. Высокий уровень IgE также проявляется при паразитических инвазиях, таких как анкилостома и заболевание центральной системы. Снижение уровня IgE происходит при аутоиммунных заболеваниях, язвенных колитах, гепатитах, раке и малярии. Уровень IgE в крови пуповины или сыворотке может прогнозировать риск возможных аллергических заболеваний в будущем у ребенка.

Концентрация уровня IgE в пациентов зависит от степени аллергической реакции и от числа разных аллергенов к которым он синтезируется. Неаллергический уровень концентрации IgE у разных индивидов имеет широкие границы и растет в детстве, достигая своего высшего уровня в 15-20 лет, потом остается неизменным до 60 лет, после чего медленно падает.

IgE количественный иммуноферментный анализ является быстрым, чувствительным и надежным анализом общего IgE в сыворотке. Минимальная чувствительность анализа равна около 5,0 Е/мл.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

IgE ELISA есть твердо-фазовый ферментно-связанный иммуносорбентный анализ. Система анализа использует одно моноклональное анти-IgE-антитело иммобилизовано на лунках для твердой фазы и другое анти-IgE антитело конъюгировано к HRP. Образец добавляется в лунки и инкубируется с нулевым буфером. Если человеческий IgE присутствует в образце, он реагирует с антителом на лунке. После удаления остатков тестового образца, добавляется анти-IgE-HRP конъюгат. Конъюгат связывается с IgE на лунке, в результате чего молекулы IgE будут в сэндвиче между твердо-фазными и ферментно-связанными антителами. После инкубации при комнатной температуре, ячейки промываются для удаления несвязанного конъюгата. Добавляется ТМВ реагент и инкубируется при комнатной температуре 20 минут, в результате развивается голубой цвет. Развитие цвета останавливается добавлением стоп раствора, цвет изменяется на желтый и измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Концентрация IgE прямо пропорциональна интенсивности цвета в образце.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Материалы, поставляемые с наборами:

1. Планшетка с привитыми антителом на 96 лунок.
2. Набор стандартов: содержащих 0, 10, 50, 100, 400 и 800 МЕ/мл, жидкие, готовые к использованию.
3. Нулевой буфер, 12 мл.
4. Реагент энзимного конъюгата, 18 мл.
5. ТМВ субстрат, 12 мл.
6. Стоп раствор, 12 мл.
7. Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

Необходимые, но не поставляемые материалы:

1. Точные пипетки: 10-40, 40-200 мкл и 1,0 мл.
2. Одноразовые наконечники к пипеткам.
3. Дистиллированная вода.
4. Вихревой смеситель или аналог.
5. Абсорбирующая бумага или бумажное полотенце.

6. Графическая бумага.
7. Микропланшетный считыватель.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотка должна быть приготовлена из цельной крови, собранной обычной технологией. Этот набор предназначен для использования сыворотки без добавок.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЙ

Неоткрытые наборы хранить при 2-8°C до истечения срока годности вместе с микропланшетом в запечатанной упаковке с осушителем, чтобы минимизировать попадание влаги. Открытые наборы будут сохранять свою активность до окончания срока годности. Не используйте реагенты после этого срока. Можно использовать фотометр с шириной размаха 10 нм или меньше, оптической плотностью 0-2 ОП или больше при длине волны 450 нм.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Все реагенты нужно привести к комнатной температуре (18-22°C) перед использованием.
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) в дистиллированной воде, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поставьте необходимое число покрытых лунок в держатель.
2. Добавьте 20 мкл стандарта, контролей и образцов в лунки.
3. Добавьте 100 мкл нулевого буфера в каждую лунку.
4. Тщательно смешайте 10 сек. Очень важно добиться полного смешивания на этом этапе.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-22 °C) 30 мин.
6. Опорожните лунки, вытряхиванием содержимого в контейнер для отходов.
7. Промойте и опорожните планшетку 5 раз промывочным раствором (1x).
8. Резко переверните планшетку на абсорбирующую бумагу для удаления оставшихся капель воды.
9. Добавьте 150 мкл энзимного конъюгата в каждую лунку. Перемешайте 5 сек.
10. Инкубируйте при комнатной температуре 30 мин.
11. Опорожните лунки.
12. Промойте и опорожните планшетку 5 раз промывочным раствором (1x).
13. Переверните планшетку на абсорбирующую бумагу для удаления оставшихся капель воды.
14. Добавьте 100 мкл ТМВ субстрата в каждую лунку. Перемешайте 5 сек.
15. Инкубируйте при комнатной температуре в темноте 20 мин.
16. Добавьте 100 мкл стоп раствора в каждую лунку.
17. Тщательно перемешайте 30 сек. Важно добиться, чтоб голубой цвет изменился на желтый целиком.
18. Считайте оптическую плотность при 450 нм планшетным считывателем.

Важное замечание:

Процедура промывания крайне важна. Недостаточное промывание может привести к неточным результатам.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Вычислите среднюю абсорбцию (A450) для каждого набора установленных стандартов, контроля и образцов. Постройте калибровочную кривую, откладывая среднюю абсорбцию, полученную для каждого стандарта на оси Y против его концентрации в МЕд/мл на оси X на графической бумаге. Используя среднюю абсорбцию для каждого образца, определите соответствующую концентрацию IgE в МЕд/мл на калибровочной кривой.

ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают со считыванием оптической плотности при 450 нм на оси Y по отношению к концентрациям IgG на оси X. пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. ее нельзя использовать для расчета неизвестных значений. Каждый пользователь должен установить свои собственные данные и калибровочную кривую.

IgE (МЕд/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,008
10	0,189
50	0,851
100	1,287
400	2,300

800	2,966
-----	-------

(Пример калибровочной кривой см. в оригинале инструкции).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Уровень общего IgE в норме без аллергии у взрослых составляет менее 150 МЕд/мл в сыворотке. Минимально определяемая концентрация IgE этого набора составляет 5,0 МЕд/мл.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
е-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com