

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgG-АНТИТЕЛ К ПИЩЕВЫМ АЛЛЕРГЕНАМ, РОССИЙСКАЯ ПАНЕЛЬ

## 7193, 90G IgG ELISA Kit

Каталог. № : 7193

Методика от 03-2013

Количество : 96

Производитель: **BIOMERICA INC.,**  
(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

Набор 90 Foods IgG ELISA Test 7193 предназначен для диагностики полуколичественного определения IgG-антител в человеческой сыворотке, специфичных к 90 различным пищевым аллергенам. Полученные данные необходимо соотносить с клиническими проявлениями, так как независимое повышение уровня специфических антител к конкретному пищевому продукту ещё не означает наличие болезни. Этот тест не даёт информацию об IgE-опосредованном механизме пищевой аллергической реакции.

### ВВЕДЕНИЕ

Тема пищевой аллергии и роль пищевых продуктов и пищевых добавок как причины гиперчувствительности вызывают неизменный интерес вот уже много лет. Обычно к факторам - причине гиперчувствительности относят коровье молоко, яйца, пшеницу, кукурузу, шоколад, орехи, сою и моллюски. Около 0,5% детей могут иметь реакцию гиперчувствительности к коровьему молоку. Исследования показали, что вероятность развития пищевой гиперчувствительности возрастает на 50% у братьев и сестёр детей с доказанной пищевой гиперчувствительностью. Почти все продукты питания из одной группы могут иметь общие аллергенные свойства, и некоторые продукты из разных групп могут вызывать перекрёстные аллергические реакции. Для снижения аллергической реакции в некоторых случаях может быть рекомендовано использование приготовленного продукта, так как это может снижать аллергенные свойства по сравнению с сырым продуктом.

Наиболее распространены гастроинтестинальные симптомы пищевой аллергии – тошнота, диарея и абдоминальные боли. Клиническая манифестация симптомов пищевой аллергии включает классические аллергические признаки, включая анафилаксию, аллергические риниты, атопические дерматиты и крапивницу. В настоящее время обсуждается роль пищевой аллергии в развитии таких патологий как синдром хронической усталости и мигрень. Необходимо помнить, что симптомы пищевой аллергии, особенно гастроинтестинальные, могут маскироваться самыми разнообразными признаками.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Специфические аллергены иммобилизованы каждый в отдельной ячейке планшета. Аллергены связываются со специфическими антителами, присутствующими в сыворотке пациента. Избыток антител удаляется на стадии промывки. В следующей инкубации фермент-меченые антитела связываются с аллерген-антителом комплексом. После промывки и удаления несвязавшихся компонентов добавляется субстратный раствор, взаимодействующий с ферментом, в результате образуется цветной комплекс. Оптическая плотность полученного раствора прямо пропорциональна концентрации специфических IgG-антител в образце сыворотки.

### РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

Набор содержит необходимые материалы и реагенты для определения специфических IgG-антител к 90 пищевым аллергенам в трёх образцах человеческой сыворотки.

Материал	Описание	Количество
PLA FOOD	Микролуны, покрытые 90G	3 штуки
DIL SPE 1X	Разбавитель образца (Зеленый)	1x56 мл
BUF WASH 66.67X	Промывочный раствор (концентрат)	1x30 мл

CAL FOOD IgG	Калибратор Пищевого IgG	1x1.0 мл
CTRL + IgG	Положительный контроль Пищевого IgG	1x1.0 мл
CONJ ENZ IgG-HRP	HRP конъюгат Пищевого IgG	1x40 мл
SUBS A TMB	Раствор субстрата А (ТМБ)	2x12 мл
SUBS B H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Раствор субстрата В (перекись водорода)	2x12 мл
SOLN STOPPING	Стоп раствор (1N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1x20 мл

### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

*Тест предназначен только для исследования in vitro.*

#### 1. Материалы, представляющие потенциальную инфекционную опасность

Контроли и калибратор, входящие в состав набора, приготовлены на основе человеческой сыворотки. Образцы сыворотки, использованные при их приготовлении, имели отрицательные результаты при исследовании FDA-лицензированными реагентами на наличие антител к ВИЧ и HCV, и поверхностного антигена гепатита В. Тем не менее, так как не существует методов, полностью гарантирующих отсутствие ВИЧ, HBs-антигена или каких-либо других инфекционных агентов в биологическом материале, рекомендуется обращаться с этими реагентами как с потенциально инфекционно-опасными.

#### 2. Азид натрия

Некоторые реагенты, входящие в состав набора, содержат азид натрия, который может взаимодействовать с некоторыми металлами (медь, латунь, свинец) с образованием взрывчатых веществ. При попадании этих реагентов на кожу смывайте их большим количеством воды.

#### 3. Стоп раствор

Стоп раствор содержит 1N раствор серной кислоты. Осторожно, едкое вещество. Не пипетируйте ртом. Работайте в перчатках и защитной одежде, защищайте глаза и избегайте аэрозоля. Разбавьте пролитый раствор водой и соберите его абсорбентом (например, туалетной бумагой).

### ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Все пробы сыворотки должны быть разбавлены 1:100 буфером для разведения образцов. Следовательно, 0,1 мл образца могут быть разбавлены 10 мл буфера для разведения образцов.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

#### 1. Промывающий буфер

Добавьте содержимое флакона полностью в сосуд объёмом 2,0 л и разбавьте 2000 мл дистиллированной или деионизированной воды. Хорошо перемешайте. Пометьте сосуд как "Рабочий раствор промывающего буфера" и храните при 2-8 °С. Приготовленный реагент стабилен 6 месяцев при хранении при 2-8 °С.

#### 2. Субстратный реагент

Смешайте субстратные растворы «А» и «В» в соотношении 1:1 за 30 минут до использования и пометьте полученную смесь как "Рабочий субстратный раствор". Готовьте только необходимое количество раствора. Например, для одного планшета и одного образца смешайте по 5 мл растворов «А» и «В». Оставшуюся после работы смесь нельзя хранить – выбросьте её. Не путайте крышки от флаконов с разными субстратными растворами. Если "Рабочий субстратный раствор" приобрёл голубой цвет, то он непригоден для использования. "Рабочий субстратный раствор" стабилен 60 минут при комнатной температуре.

### ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры.

- ПРИГОТОВЛЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ:** Пометьте 4 стеклянные пробирки 12x75 мм как калибраторы «50», «100», «200» и «400» Ед/мл. Добавьте по 150 мкл Буфера для разведения образцов в каждую из этих 4-х помеченных пробирок. Добавьте 150 мкл Калибратора из флакона в пробирку «Калибратор 400». Хорошо перемешайте. Отберите 150 мкл приготовленного калибратора из пробирки «Калибратор 400» и добавьте его в пробирку «Калибратор 200». Хорошо перемешайте. Отберите 150 мкл приготовленного «Калибратора 200» из соответствующей пробирки и добавьте его в пробирку «Калибратор 100». Хорошо перемешайте. Снова отберите 150 мкл приготовленного «Калибратора 100» из соответствующей пробирки и добавьте его в пробирку «Калибратор 50». Хорошо перемешайте. Приготовленные растворы калибраторов используются в анализе для построения калибровочной кривой.

Добавьте по **100 мкл** каждого **калибратора** в ячейки микропланшета как показано в таблице:

Калибратор, Ед/мл	Ячейка
50	1В
100	1С
200	1D
400	1E

Добавьте **100 мкл Буфера для разведения проб** в ячейку 1А и **100 мкл Положительного контроля** в ячейку 1F.

- Добавьте в остальные ячейки планшета по **100 мкл разбавленного образца** пациента (смотрите раздел "Подготовка образца"). В каждой ячейке планшета в итоге должно оказаться по 100 мкл раствора.
- Накройте микропланшет плёнкой или пластиковой крышкой и инкубируйте **1 час** при комнатной температуре (22-25°C).
- Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора (смотрите раздел "Подготовка реагента"). Если используется автоматический вошер, используйте инструкцию для трех циклов промывок 300 мкл.
- Добавьте **100 мкл** раствора **ферментного конъюгата** в каждую ячейку.
- Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (22-25°C).
- Промойте планшет как указано в шаге 4.
- Добавьте **100 мкл "Рабочего субстратного раствора"** (смотрите раздел "Подготовка и хранение реагента") в каждую ячейку.
- Закройте планшет и инкубируйте **10 минут** при комнатной температуре (22-25°C).
- Постройте калибровочную кривую на линейной миллиметровой бумаге, откладывая на оси Y значения оптических плотностей, а на оси X - концентрации калибраторов. Найдите значения концентраций образцов из калибровочной кривой. Пример калибровочной кривой приведён ниже. **Эти данные не должны быть использованы вместо данных, полученных в лаборатории, для расчёта концентрации образцов.**

Ячейка	Тип ячейки	ОП ±
1А	Калибратор 0	0.070
1В	Калибратор 50	0.562
1С	Калибратор 100	0.858
1D	Калибратор 200	1.221
1E	Калибратор 400	1.767
1F	Положительный контроль	1.408
1G	Образец	0.280

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Результаты действительны, если результаты анализа удовлетворяют следующим условиям:

Параметр	Условие
ОП 1А	ОП < 0.2 ед. ОП
ОП 1В	> 1.2 x ОП1А
ОП 1С	> 1.2 x ОП1В
ОП 1D	> 1.2 x ОП1С
ОП 1E	> 1.2 x ОП1D
Концентрация положительного контроля	> 100 Е/мл

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные значения концентрации образцов в Е/мл необходимо интерпретировать следующим образом:

Результат, Е/мл	Интерпретация
<50	Отрицательный / 0
50 – 100	Лёгкая аллергическая реакция / +1
100 – 200	Умеренная аллергическая реакция / +2
>200	Сильная аллергическая реакция / +3

#### Расположение на планшете 90 специфических аллергенов (IgG ELISA Test 7193Ru)

	1	2	3	4	5
A	Бланк	Ананас	Банан	Глютен	Грецкий орех
B	Калибратор 1	Морковь	Огурец	Чёрный перец	Пшеница
C	Калибратор 2	Апельсин	Баранина	Говядина	Гречневая крупа
D	Калибратор 3	Дыня канталупа	Оливки	Перец чили	Пшено
E	Калибратор 4	Арахис	Бета-лактоглобулин	Голубика	Грибы (шампиньоны)
F	Положительный контроль	Мягкий сыр	Орех колы	Персик	Пятнистая фасоль
G	Авокадо	Баклажан	Виноград белый	Грейп-фрут	Груша
H	Коровье молоко	Овёс	Палтус	Петрушка	Рис

6	7	8	9	10	11	12
Дрожжи пекарские	Земляника	Кальмар	Картофель	Кролик	Курица	Масло сливочное
Рожь	Сельдерей	Стручковая фасоль	Треска	Устрицы	Цельное зерно ячменя	Шоколад
Дрожжи пивные	Индейка	Камбала	Кофе	Кукуруза	Лимон	Мед
Сардины	Семя подсолнуха	Сыр Брынза	Тростниковый сахар	Форель	Чёрный чай	Яблоко
Зелёный горошек	Йогурт	Капуста брокколи	Краб	Кунжут	Лосось	Миндаль
Свекла	Слива	Сыр Чеддер	Тунец	Хек	Чеснок	Яичный белок
Зелёный сладкий перец (р. Сарыкум)	Казени	Капуста кочанная	Креветки	Табак	Лук	Молочко козье
Свинина	Соевые бобы	Томаты	Тыква	Цельная капуста	Швейцарский сыр	Яичный желток



**ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР**

ООО «ДИАМЕБ»  
ул. Чорновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)