



Vitrotest[®]

Vitrotest Total-IgE

Імуноферментна тест-система для кількісного визначення вмісту загального імуноглобуліну E

Інструкція з використання

1. Призначення
2. Клінічне значення
3. Принцип аналізу
4. Матеріали та обладнання
5. Застереження та техніка безпеки
6. Зберігання та стабільність
7. Підготовка зразків
8. Підготовка реагентів
9. Процедура аналізу
10. Облік результатів та їх інтерпретація
11. Діагностичні характеристики тесту
12. Обмеження аналізу

Література

Умовні позначення

IVD

Для in vitro діагностики

REF

TK070

«Vitrotest Total-IgE»

Імуноферментна тест-система для кількісного визначення вмісту загального імуноглобуліну Е

1. Призначення

Імуноферментна тест-система «Vitrotest Total-IgE» призначена для кількісного визначення вмісту загального імуноглобуліну Е у сироватці чи плазмі крові людини.

Тест-набір може бути застосований як для проведення ІФА з використанням автоматичних піпеток та стандартного обладнання, так і для постановки на автоматичному імуноферментному аналізаторі відкритого типу.

2. Клінічне значення

Алергія — підвищена чутливість організму до певної речовини — алергену, що виникає при повторному контакті організму з цим алергеном.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, більш як 20% населення світу страждає на алергічну бронхіальну астму, алергічний риніт, атопічний дерматит та інші алергічні реакції. У дітей алергічні захворювання займають перше місце серед хронічних захворювань, причому основну їх частину складає харчова алергія. Згідно зі статистикою, від 5 до 15% дітей має харчову алергію, що в подальшому призводить до розвитку різних алергічних захворювань. Це пов'язано з посиленням алергенного навантаження на людину. В якості алергенів виступають харчові продукти (молоко корови, риба, яйця, злакові, овочі та фрукти помаранчевого або червоного кольору, морепродукти), домашній пил, хутро та частинки епітелію тварин, плісняві та дріжджові гриби, лікарські препарати, синтетичні матеріали тощо.

За сучасною класифікацією, виділяють 4 типи алергічних реакцій (або реакцій гіперчутливості), серед яких найбільш розповсюдженою є реакція першого типу – алергічна реакція анафілактичного (негайного) типу. В її основі лежить реактивний механізм пошкодження тканин, що протікає зазвичай за участю антитіл класу IgE, рідше IgG4 на поверхні мембран і тучних клітин. Реакція анафілактичного типу протікає в 3 фази: 1 - імунологічна фаза, в якій алергени з'єднуються з імуноглобулінами Е, які фіксовані на базофілах і тучних клітинах, змінюючи властивості клітинних мембран; 2 - патохімічна або біохімічна фаза - відбувається дегрануляція тучних клітин і базофілів з виділенням великої кількості медіаторів; 3 - патофізіологічна фаза - дія медіаторів на органи і тканини. Клінічні прояви реакції виникають через 15-20 хвилин після контакту зі специфічним алергеном. Типовими клінічними прикладами алергічної реакції першого типу є анафілактичний шок, бронхіальна астма, кропив'янка, контактний дерматит, лікарська та харчова алергія, алергічний риніт, поліноз, кон'юнктивіт, набряк Квінке, алергічний бронхолегеневий аспергільоз.

Сьогодні все більшої популярності набувають методи діагностики алергії *in vitro*, одним з яких є імуноферментний аналіз (ІФА) для визначення вмісту загального IgE. Цей метод характеризується низкою переваг: не має протипоказань до обстеження, не викликає додаткової сенсibiliзації, відсутній ризик анафілактичних реакцій, не має вікових обмежень.

ІФА тест-системи дозволяють визначати рівень антитіл класу IgE у сироватці чи плазмі крові людини. Підвищення рівня IgE свідчить про наявність у пацієнта алергії чи іншого захворювання (наприклад, гельмінтозів, що часто зустрічається в країнах, які розвиваються, гіпер-IgE синдрому, IgE-мієломи тощо). Концентрація IgE в сироватці крові зростає поступово з моменту народження і до підліткового віку. У дорослих людей концентрація IgE в нормі може сягати до 100 МО/мл.

Оскільки метод ІФА має високу чутливість та специфічність, а також не має протипоказань до застосування, він може бути широко застосований для діагностики алергічних захворювань.

3. Принцип аналізу

Принцип аналізу тест-системи «Vitrotest Total-IgE» базується на одноетапному «сендвіч»-варіанті імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням пари моноклональних антитіл у складі імуносорбенту та пероксидазного кон'югату.

Твердою фазою в тест-системі є стрипований ІФА-планшет з попередньо засорбованими в лунках першими моноклональними антитілами, специфічними до IgE. Другі моноклональні антитіла входять до складу пероксидазного кон'югату. Під час інкубації досліджуваних зразків та пероксидазного кон'югату в лунках планшета імуноглобуліни класу Е зв'язуються одночасно як з першими антитілами на твердій фазі, так і з другими антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому – утворюючи «сендвіч». Незв'язані компоненти видаляються під час відмивання планшета. Візуалізація утворених імунних комплексів відбувається при внесенні в лунки розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ). В результаті реакції розчин в лунках, де утворились імунні комплекси, забарвлюється в синій колір. Реакція зупиняється додаванням стоп-реагенту, при цьому синій колір забарвлених лунок змінюється на жовтий. Результат аналізу визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620 нм.

Внутрішні калібратори тест-системи «Vitrotest Total-IgE» стандартизовані за 2-м Міжнародним стандартом ВООЗ 75/502, одиниці вимірювання – МО/мл.

4. Матеріали та обладнання

4.1 Склад набору

ІФА-планшет – 1 планшет по 96 лунок (з можливістю відокремлення кожної лунки), з іммобілізованими моноклональними антитілами до імуноглобуліну класу Е людини.

Калібратор K0 – 2 мікропробірки, що містять по 1,8 мл сироватки крові (жовтий).

Калібратор K10 – 1 мікропробірка, що містить 0,2 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 10 МО/мл (жовтий).

Калібратор K50 – 1 мікропробірка, що містить 0,2 сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 50 МО/мл (жовтий).

Калібратор K250 – 1 мікропробірка, що містить 0,2 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 250 МО/мл (жовтий).

Калібратор K500 – 1 мікропробірка, що містить 0,2 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 500 МО/мл (жовтий).

Калібратор K1000 – 1 мікропробірка, що містить 0,2 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 1000 МО/мл (жовтий).

Контрольна сироватка - 1 мікропробірка, що містить 0,2 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 170-230 МО/мл (жовтий).

Розчин кон'югату РК – 1 флакон, що містить 16 мл буферного розчину моноклональних антитіл до IgE людини, кон'югованих з пероксидазою хрому, із екстрактом молока, стабілізаторами та консервантом (фіолетовий). Готовий до використання.

Розчин ТМБ – 1 флакон, що містить 12 мл розчину ТМБ і перекису водню з стабілізатором та консервантом (безбарвний).

Розчин для промивання Tw20 (20x) – 1 флакон, що містить 50 мл 20-ти кратного концентрату фосфатного буферу з Твіном-20 (безбарвний).

Стоп-реагент – 1 флакон, що містить 12 мл розчину 0,5М сірчаної кислоти (безбарвний).

Клейка плівка – 2 аркуші плівки для заклеювання планшетів під час інкубації.

Бланк внесення проб – 1 аркуш для запису схеми внесення зразків.

Бланк для калібрувального графіку – 2 аркуші для побудови калібрувальних графіків

Інструкція – 1 екземпляр інструкції з використання.

4.2 Додаткові реактиви, матеріали та обладнання

Для постановки аналізу необхідні такі додаткові реактиви, матеріали та обладнання:

- деіонізована або дистильована вода;
- фільтрувальний папір;
- мірні циліндри на 10, 200 та 1000 мл;
- одноразові рукавички;
- розчин перекису водню 6%;
- одноразовий або чистий посуд для приготування реактивів (флакони та ванночки);
- таймер;
- одно- та багатоканальні автоматичні піпетки змінного об'єму на 20, 200 та 1000 мкл та наконечники до них;
- термостат на 37°C;
- контейнер для твердих відходів;
- контейнер для рідких відходів;
- ¹автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- ²одно- або багатоканальний спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 нм.

^{1,2} Будь ласка, проконсультуйтеся з нами щодо адаптації Вашого обладнання.

5. Застереження та техніка безпеки

5.1. Застереження:

– не використовуйте компоненти тест-системи після закінчення строку придатності;

– не використовуйте під час аналізу та не змішуйте компоненти різних серій та компоненти із тест-систем різних нозологій;

– не використовуйте реагенти інших виробників у поєднанні з наборами Vitrotest™;

- Примітка: Розчин для промивання Tw20 (20x), Розчин ТМБ, стоп-реагент допускається використовувати інших серій, які відрізняються від тих, що вкладені до тест-набору. Ці реагенти використовуються в інших тест-системах виробництва ТОВ „ІВК „Рамінтек“. Будь ласка, проконсультуйтеся з нами для отримання детальної інформації.

– після використання реагенту закривайте кожен флакон своєю кришкою;

– чітко дотримуйтесь режиму промивання планшетів, вказаного в пунктах інструкції;

– під час промивання контролюйте наповнення та повну аспірацію розчину з лунок;

– кожного разу використовуйте новий наконечник піпетки для внесення зразків або реагентів;

– уникайте потрапляння прямих сонячних променів на реагенти тест-системи;

– розчин ТМБ перед використанням має бути безбарвним або світло блакитним, якщо розчин забарвлений в синій або жовтий колір, його не можна використовувати. Уникайте контакту розчину ТМБ з металами або іонами металів. Для роботи використовуйте лише чистий, ретельно виполосканий дистильованою водою посуд;

– для внесення в лунки планшета ТМБ-субстрату використовуйте лише нові наконечники, що не були у використанні;

– в жодному разі не використовуйте один й той же посуд для розчину кон'югату та хромогену.

5.2. Техніка безпеки:

– всі реагенти набору призначені лише для *in vitro* діагностики;

– постановку аналізу проводити лише у гумових рукавичках;

– не піпетувати розчини ротом;

– калібратори тест-системи «Vitrotest Total-IgE» не містять антитіл до ВІЛ_{1/2}, ВГС, *Treponema pallidum* та HBsAg, однак поводитись із калібраторами та досліджуваними сироватками слід як із потенційно небезпечним інфекційним матеріалом;

– рідкі відходи слід інактивувати, наприклад, розчином перекису водню у кінцевій концентрації 6% упродовж 3 годин при кімнатній температурі, або гіпохлоритом натрію у кінцевій концентрації 5% протягом 30 хвилин, або іншими дезінфікуючими агентами;

– тверді відходи слід інактивувати шляхом автоклавування при 121°C упродовж 1 години;

– не автоклауйте розчини, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію;

– слід уникати розбризкування розчинів ТМБ та стоп-реагенту, а також їх контакту зі слизовими оболонками та шкірою;

– у разі розбризкування розчинів, що не містять кислоти, наприклад, сироваток, обробити поверхню 6%-м перекисом водню, а потім витерти насухо фільтрувальним папером.

6. Зберігання та стабільність

Реагенти тест-системи стабільні протягом строку придатності вказаного на етикетці, якщо їх зберігати при 2-8°C.

Транспортувати набір при температурі 2-8°C. Допускається одноразове транспортування при температурі не вище 20°C протягом двох діб.

7. Підготовка зразків

Зразки сироватки чи плазми крові можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 3 діб після забору. **Більш тривале зберігання зразків** допускається лише **замороженими** при температурі від -20 до -70°C. Заморожені зразки перед використанням розморожують та витримують при кімнатній температурі упродовж 30 хвилин. Після розморожування зразки слід перемішати задля досягнення однорідності. Уникайте повторного заморожування-відтаювання досліджуваних зразків. У разі помутніння сироватки (чи плазми) звільняються від нерозчинних включень центрифугуванням при 3000 об./хв. протягом 10-15 хвилин. Не використовуйте зразки сироваток із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактерійним проростом.

8. Підготовка реагентів

Дуже важливо витримати всі реагенти тест-системи «Vitrotest Total-IgE» при кімнатній температурі 18-25°C протягом 30 хвилин перед використанням.

8.1. Підготовка ІФА-планшета

Для попередження конденсації води в лунках відкривайте ІФА-планшет лише після витримання 30 хвилин при кімнатній температурі. Розкрийте вакуумну упаковку, відокремте необхідну кількість лунок, а решту відразу ж ретельно упакуйте та **зберігайте щільно закритим на замок (zip-lock)** при температурі 2-8°C. Зберігання в такий спосіб упакованого планшета забезпечує його стабільність протягом 3 місяців.

8.2. Розчин для промивання

Флакон містить 50 мл 20х концентрату буферу з детергентом. Для приготування розчину для промивання розведіть концентрат 1:20 (тобто, 1+19) дистильованою або деіонізованою водою, потім перемішайте. Наприклад: на 8 мл концентрату – 152 мл дистильованої води, що достатньо для чотирьох стрипів. У випадку наявності кристалів у концентраті розчину для промивання прогрійте флакон при 37°C протягом 15-20 хвилин.

Розведений розчин можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 7 діб.

8.3. Попереднє розведення зразків

Для коректного визначення концентрації загального IgE в досліджуваних сироватках, в яких за попередніми даними вміст IgE більше 1000 МО/мл, слід приготувати їх попереднє розведення 1:20, використовуючи калібрувальний зразок K0 (0 МО/мл), наприклад: 190 мкл калібрувального зразку K0 + 10 мкл досліджуваного зразку.

Увага! Якщо вміст загального IgE в досліджуваних зразках, взятих у попередньому розведенні 1:20, більше 1000 МО/мл, слід приготувати попереднє розведення цих зразків 1:40.

9. Процедура аналізу

9.1. Підготувати необхідну кількість лунок для аналізу (кількість досліджуваних зразків та 12 лунок для калібраторів), вставити їх в рамку ІФА-планшета. Лунки з калібраторами обов'язково включати до кожної постановки аналізу.

- 9.2. Заповнити Бланк внесення проб.
 9.3. Приготувати розчин для промивання згідно пункту 8.2.
 9.4. В лунки стрипів внести по 150 мкл розчину кон'югату.
 9.5. Внести в лунки по 20 мкл калібраторів та досліджуваних зразків:
 в лунки А1, А2 – калібратор К0;
 В1, В2 – калібратор К10;
 С1, С2- калібратор К50;
 D1, D2 – калібратор К250;
 Е1, Е2 – калібратор К500;
 G1, G2 – калібратор К1000;
 F1 та решта лунок – досліджувані зразки.

Калібратори можна вносити в одному повторі, але при цьому може спостерігатись зниження достовірності результатів.

Під час внесення сироваток та калібраторів обережно піпетуйте суміш – відбувається зміна кольору розчину кон'югату з фіолетового на синій.

9.6. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 90 хвилин при температурі 37°C.

9.7. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки наступним чином:

- видалити вміст лунок в контейнер для рідких відходів;
- наповнити лунки стрипів не менш ніж по 300 мкл розчином для промивання;
- аспірувати розчин з лунок, залишковий об'єм розчину після аспірації на всіх етапах промивання має складати не більше 5 мкл;
- повторити процедуру промивання ще чотири рази;
- після останньої аспірації позбавитись зайвої вологи, постукуючи планшетом по фільтрувальному паперу.

9.8. «Розчин ТМБ» є готовим для використання розчином ТМБ-субстрату з перекисом водню. Розчин ТМБ має бути безбарвним, слід запобігати потраплянню сонячного проміння на розчин. Вносити розчин ТМБ слід чистим новим наконечником: обережно відібрати розчин ТМБ з флакону і, не торкаючись дна та стінок лунок планшета, внести по 100 мкл розчину ТМБ в лунки.

9.9. Інкубувати ІФА-планшет протягом 30 хвилин в темному місці при кімнатній температурі 18-25°C.

9.10. Для зупинення ферментативної реакції внести в лунки стрипів по 100 мкл стоп-реагенту, дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні розчину ТМБ-субстрату.

9.11. Виміряти на рідері оптичну густину в кожній лунці стрипів при довжині хвилі 450/620 нм протягом 5 хвилин після зупинення реакції. Зверніть увагу на чистоту зовнішньої поверхні дна лунок.

Облік результатів аналізу можна проводити в однохвильовому режимі при довжині хвилі 450 нм, в цьому випадку слід залишити лунку для встановлення бланку (в таку лунку вносити лише розчин ТМБ та стоп-реагент).

10. Облік результатів та їх інтерпретація

10.1. Достовірність результатів аналізу:

Результати аналізу вважати достовірними, якщо ОГ кожного з перелічених в Таблиці 1 зразків знаходиться в указаному діапазоні значень та концентрація контрольної сироватки знаходиться в діапазоні, вказаному на етикетці мікропробірки (170- 230 МО/мл).

Таблиця 1

Калібратор	Допустимий діапазон значень ОГ
К0	не вище 0,1 ОО
К10	$ОГ\ К10 \geq ОГ\ К0 \times 2$
К50	$ОГ\ К50 \geq ОГ\ К10 \times 2$
К250	$ОГ\ К250 \geq ОГ\ К50 \times 3$
К500	$ОГ\ К500 \geq ОГ\ К250 \times 1,3$
К1000	не менш ніж 1,7 ОО

Якщо отримані дані виходять за межі вказаних значень, результати аналізу слід вважати недостовірними і аналіз необхідно повторити.

10.2. Облік результатів аналізу.

Для більш точного визначення концентрації антитіл класу IgE в МО/мл в досліджуваних сироватках рекомендуємо побудувати два калібрувальних графіки залежності ОГ від концентрації IgE (МО/мл): калібрувальний графік «0-250 МО/мл» для визначення концентрацій IgE до 250 МО/мл і калібрувальний графік «0-1000 МО/мл» для визначення концентрацій IgE більше 250 МО/мл. Для побудови калібрувального графіка «0-250 МО/мл» на осі ОУ відкладіть значення ОГ калібраторів К0, К10, К50 та К250, а на осі ОХ – відповідні їм концентрації - 0, 10, 50, 250 МО/мл, відповідно. Для побудови калібрувального графіка «0-1000 МО/мл» на осі ОУ відкладіть значення ОГ калібраторів К0, К10, К50, К250, К500 та К1000 а на осі ОХ – відповідні їм концентрації - 0, 10, 50, 250, 500, 1000 МО/мл, відповідно.

За допомогою калібрувальних графіків визначте концентрацію (МО/мл) загального IgE у досліджуваних зразках, яка відповідає значенню отриманої ОГ. У випадку додаткового розведення досліджуваних зразків необхідно

отриману концентрацію IgE помножити на кратність розведення (x20 або x40). Для цих розрахунків слід використовувати концентрації розведених зразків, що знаходяться в діапазоні 50-1000 МО/мл.

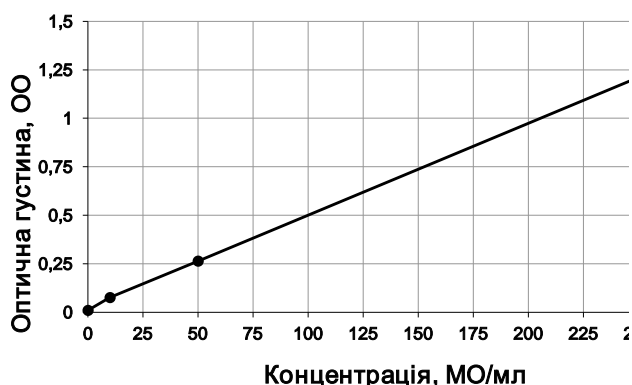


Рис. 1а. Типовий калібрувальний графік «0-250 МО/мл»

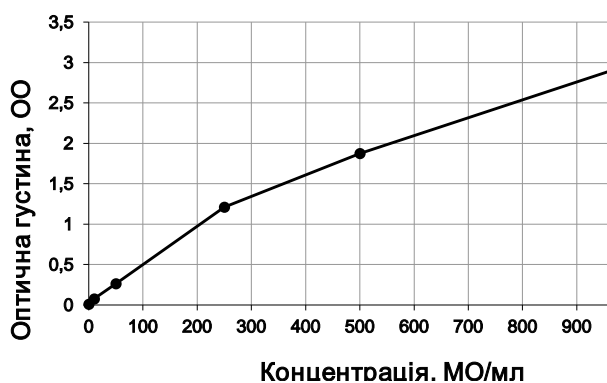


Рис. 1б. Типовий калібрувальний графік «0-1000 МО/мл»

Примітка: не використовуйте ці графіки для визначення концентрації загального IgE у Вашому аналізі.

Для зручності обліку результатів реакції можна використовувати комп'ютерні програми зчитування та обрахунку результатів досліджень.

10.3. Інтерпретація результатів.

Результати визначення концентрації загального IgE в МО/мл інтерпретують виходячи з того, що в сироватці крові дорослої людини в нормі міститься до 100 МО/мл загального IgE. Фізіологічні норми IgE для дітей залежать від віку: 2 – 5 років - < 60,0 МО/мл, 6 – 9 років - < 90,0 МО/мл, 10 – 15 років - < 200,0 МО/мл [2].

Крім того, рекомендується кожній лабораторії визначити власні діапазони вмісту загального IgE в нормі для різних вікових груп населення.

11. Діагностичні характеристики тесту

11.1. Специфічність та чутливість

Моноклональні Anti-IgE антитіла, що використовуються в тест-системі, не виявляють перехресної реактивності з імуноглобулінами людини класів А, М, G.

Мінімальна концентрація загального IgE, що достовірно визначається в тест-системі «Vitrotest Total-IgE», складає 5 МО/мл.

В тест-системі «Vitrotest Total-IgE» концентрації калібраторів вказані в МО/мл. Для перерахунку концентрацій в нг/мл, необхідно концентрацію отриману в МО/мл помножити на 2,4.

11.2. Точність

Відтворюваність результатів в межах однієї постановки аналізу (Intra assay reproducibility)

Коефіцієнт варіації (CV) для двох сироваток з різним рівнем загального імуноглобуліну Е оцінювали в 32 повторях на двох серіях тест-систем.

№ сироватки	ОГ середня	CV ₁ , %	CV ₂ , %
S424	0,410	2,0	5,0
S268	1,675	6,0	7,0

Відтворюваність результатів між різними постановками аналізу (Inter assay reproducibility)

Коефіцієнт варіації (CV) для двох сироваток з різним рівнем загального імуноглобуліну Е оцінювали протягом двох днів у двох постановках аналізу, по 8 повторів в кожному аналізі.

№ сироватки	ОГ	CV, %
S424	0,402	3,0
S268	1,678	7,0

12. Обмеження аналізу

Достовірні результати можна отримати лише за умови повного дотримання рекомендацій інструкції до тест-системи «Vitrotest Total-IgE».

Не можна використовувати в аналізі зразки сироваток із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактеріальним проростом.

Концентрація загального IgE в сироватці більше 100 МО/мл може спостерігатись при алергічних реакціях, гельмінтозі, гіпер-IgE синдромі, IgE-мієломі та деяких інших патологічних станах. Також слід враховувати варіабельність цього показника серед різних етнічних і вікових груп.

Остаточний діагноз може бути встановлено лише з урахуванням клінічних проявів та даних комплексу лабораторних досліджень.

Література

1. Ройт А., Брестовф Дж., Мейл Д. «Иммунология» // Пер. с англ. — М.: «Мир», 2000. — 592 с.
2. Трунова О.А., Куляс В.М., Стась И.В., Андрухей С.В. Современная лабораторная диагностика IgE –зависимой аллергии// Питання експериментальної та клінічної медицини. – 2008. Випуск 12, Т.1. – С. 238-243.
3. Pawankar R., Canonica G.W., Holgate S.T., and Lockey R.F. WAO White Book on Allergy//Milwaukee, Wisconsin: World Allergy Organization, 2011. — 228 p.
4. WHO. Prevention of allergy and allergic asthma// WHO/ WAO Meeting on the prevention of allergy and allergic asthma. - Geneva, 8-9 January 2002.
5. Peuravuori H. and Korpela T. Pyrophosphatase-based enzyme-linked immunosorbent assay of total IgE in serum// Clin. Chem. – 1993. – V.39, N3. – P. 846-851.
6. Gould H.G., Sutton B.J. IgE in allergy and asthma today// Nat. Rev. Immunol. – 2008.- V.8, N3. – P. 205-217.
7. Agha F., Sadaruddin A., Abbas S., Ali S.M. Serum IgE levels in patients with allergic problems and healthy subjects// J. Pak. Med. Assoc. — 1997. — Vol. 47, №6. — P. 166-169.
8. Ezeamuzie C.I., Al-Ali S.F, Al-Dowaisan A., Khan M., Hijazi Z., Thomson M.S. Reference values of total serum IgE and their significance in the diagnosis of allergy among the young adult Kuwaiti population // Clin . Exp . Allergy, Mar. — 1999. — Vol. 29. — №3. — P. 375-381.

Умовні позначення

Інтерпретація умовних символів:

	«Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i> »
	«Код партії»
	«Номер за каталогом»
	«Дата виготовлення»
	«Використати до»
	«Температурне обмеження»
	«Містить достатньо для (n-) випробувань»
	«Берегти від прямих сонячних променів»
	«Увага, дивись інструкцію з використання»
	«Виробник»
	«Ознайомлення з інструкціями для застосування»

З питаннями та побажаннями щодо роботи набору звертайтеся до виробника:



Товариство з обмеженою відповідальністю «Іноваційно-виробнича компанія «Рамінтек»
03039 Україна, м. Київ, пр-т 40-річчя Жовтня, 7, оф. 227 (юридична адреса)
07300 м. Вишгород, Київська обл.. вул. Шолуденка, 19 (фактична адреса)
тел. +380 44 222-76-72

Схема проведення аналізу в тест-системі «Vitrotest Total-IgE»

Витримати реагенти 30 хв. при 18-25°C

Приготувати розчин для промивання планшета, розвести 20х концентрат розчину для промивання *Tw20* очищеною водою 1:20 (тобто, 1+19). Наприклад, 8 мл розчину + 152 мл води

Заповнити бланк внесення проб для аналізу

В лунки планшета внести по 150 мкл розчину кон'югату (фіолетовий)

Внести в лунки по 20 мкл калібраторів та досліджуваних зразків:

в лунки A1, A2 – калібратор K0; B1, B2 – калібратор K10;

C1, C2- калібратор K50; D1, D2 – калібратор K250;

E1, E2 – калібратор K500; G1, G2 – калібратор K1000;

F1 та решта лунок – досліджувані зразки.

Під час внесення сироваток відбувається зміна кольору розчину в лунках з фіолетового на синій

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 90 хв. при 37 °C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину ТМБ-субстрату

Інкубувати планшет 30 хв. в темряві при кімнатній температурі (18-25°C)

В лунки стрипів внести по 100 мкл стоп-реагенту

Виміряти оптичну густину в лунках на спектрофотометрі при 450/620 нм

Побудувати два калібрувальних графіки залежності ОГ від концентрації IgE (МО/мл):

калібрувальний графік «0-250 МО/мл» і калібрувальний графік «0-1000 МО/мл»

За допомогою калібрувальних графіків визначити концентрацію (МО/мл) загального IgE у досліджуваних зразках, яка відповідає значенню отриманої ОГ.

Інтерпретувати результати виходячи з того, що в сироватці крові дорослої людини в нормі міститься до 100 МО/мл загального IgE. Фізіологічні норми IgE для дітей залежать від віку: 2 – 5 років - < 60,0 МО/мл, 6 – 9 років - < 90,0 МО/мл, 10 – 15 років - < 200,0 МО/мл.