



Набор для определения Иммуноглобулина E IgE EIA KIT

Кат. № : 125-1788
Количество : 96
Производитель : DRG (Германия)

Методика 23/05/05

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен 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 анкилостомы 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.

ПРИНЦИП МЕТОДА.

IgE ELISA есть твердо-фазовый ферментно-связанный иммуносорбентный анализ. Система анализа использует одно моноклональное анти-IgE-антитело иммобилизованное на лунках для солидной фазы и другое козлиное анти- IgE антитело конъюгировано к HRP. Образец добавляется в лунки и инкубируется с нулевым буфером при комнатной температуре 30 мин. Если человеческий IgE присутствует в образце, он реагирует с антителом на лунке. После удаление остатков тестового образца, добавляется анти- IgE-HRP конъюгат. Конъюгат связывается с IgE на лунке, в результате чего молекулы IgE будут в сэндвиче между солидно-фазными и ферментно-связанными антителами.

После инкубации при комнатной температуре 30 минут, ячейки промываются для удаления несвязанного конъюгата. Добавляется TMB 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.

РЕАГЕНТЫ И ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Планшетка** с привитыми моноклональными анти-IgE на 96 лунок.
2. **Нулевой буфер**, 13 мл
3. **Реагент ферментного конъюгата**, 18 мл
4. **Набор стандартов:** содержащих 0, 10, 50, 100, 400 и 800 Ед/мл, жидкие.
5. **TMB субстрат**, 11 мл.
6. **Стоп раствор (1N HCl)**, 11 мл.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Точные пипетки и наконечники к пипеткам 20, 100 и 150 мкл.
2. Дистиллированная вода.
3. Сменные наконечники к пипеткам
4. Вортекс или его эквивалент.
5. Абсорбирующая бумага или бумажное полотенце.
6. Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм, шириной размаха 10 нм или меньше и оптической плотностью в границах 0-2 ОП или выше.
7. Графическая бумага.

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

Неоткрытые наборы хранить при 2-8°C до истечения срока годности вместе с микропланшеткой в запечатанной упаковке с десикантом, 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

Все реагенты нужно привести к комнатной температуре (18-25°C) перед использованием.

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 30 сек. Очень важно добиться полного смешивания на этом этапе.

5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-25⁰ c) 30 мин.
6. Опустошите лунки, встряхиванием содержимого в контейнер для отходов.
7. Промойте и опустошите планшетку 5 раз дистиллированной или деионизированной водой (не используйте воду из-под крана).
8. Резко переверните планшетку на абсорбирующую бумагу для удаления оставшихся капель воды.
9. Добавьте 150 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Перемешайте 10 сек.
10. Инкубируйте при комнатной температуре 30 мин.
11. Опустошите лунки.
12. Промойте и опустошите планшетку 5 раз дистиллированной или деионизированной водой (не используйте воду из-под крана).
13. Переверните планшетку на абсорбирующую бумагу для удаления оставшихся капель воды.
14. Добавьте 100 мкл ТМВ субстрата в каждую лунку. Перемешайте 10 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 ридером в течении 15 мин.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Вычислите среднюю абсорбцию (A450) для каждого набора установленных стандартов, контроля и образцов.

Постройте стандартную кривую, откладывая среднюю абсорбцию, полученную для каждого стандарта на оси Y против его концентрации в Ед/мл на оси X на графической бумаге.

Используя среднюю абсорбцию для каждого образца, определите соответствующую концентрацию IgE в Ед/мл на стандартной кривой.

ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

Следующие данные предназначены только для демонстрации и не должны использоваться во время тестирования:

IgE (Ед/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,058
10	0,167
50	0,538
100	0,950
400	2,135
800	2,748

ПРИМЕР КРИВОЙ СМОТРИ В ОРИГИНАЛЬНОЙ ИНСТРУКЦИИ

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Уровень общего IgE в норме без аллергии в взрослых становится меньше чем 100 Ед/мл в сыворотке. Минимально определяемая концентрация – 5,0 Ед/мл.

ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

1. Верные и воспроизводимые результаты можно получить когда процедура теста проводится с

- полным пониманием сути инструкции и при хорошей лабораторной практике.
2. Очень важной является процедура промывания. Недостаточное промывание дает неточные результаты и недостаточную абсорбцию.
3. Образцы сыворотки высоко липемические, гемолизированные, и мутные не должны использоваться в анализе.
4. Результаты, полученные при этом анализе не должны использоваться как единственная база для установления диагноза.

СЕРТИФИКАТ АНАЛИЗА НАБОР IgE

№ набора RN-21054		Срок пригодности: 06-06		
Для сверки № 8954				
Компоненты	№	№ набора	Срок пригодности	
1. Ячейки, покрыт. ан-ми IgE	1	MB 20018	RN-24438	01-09
2. Стандарт	1	MB 30018	RN-24350	01-08
3. Конъюгат реагент	18 мл	MB 40018	RN-24634	07-07
4. ТМВ	11 мл	MB 10051	RN-24529	01-08
5. Стоп-раствор	11 мл	MB 10074	RN-24492	01-09
7. Нулевой буфер	13 мл	MB 60018	RN-24016	11-07
7. Биорадиационный контроль (не включен)			40161-163	06-07

СТАНДАРТНАЯ КРИВАЯ

Концентрация (Ед/мл)	ОП 450 нм
0	0,088
10	0,220
50	0,675
100	1,140
400	2,402
800	2,907

Данная стандартная кривая была на основе данных, полученных при тестировании выше указанных компонентов. Она дана только для иллюстрации. Каждая лаборатория должна устанавливать собственную стандартную кривую.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ.

Контроли	Среднее (Ед/мл)	Граница
1	>800	>800
2	76	55-109
3	58	43-92

Информация для заказа
ЧМП «**ДИАМЕБ**»

ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.com

www.diameb.com