



## Набор ИФА для определения иммуноглобулина E

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

Методика от 23-05-2005

**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 непрямого 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 удаления 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

#### Поставляемые в наборе 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 МЕ/мл, жидкие.
5. **TMB субстрат**, 11 мл.
6. **Стоп раствор (1N HCl)**, 11 мл.

### НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Точные пипетки и наконечники к пипеткам 20, 100 и 150 мкл.
- Дистиллированная вода.

- Сменные наконечники к пипеткам
- Вортекс или его эквивалент.
- Абсорбирующая бумага или бумажное полотенце.
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм, шириной розмаха 10 нм или меньше и оптической плотностью в границах 0-2 ОП или выше.
- Графическая бумага.

### СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

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

### ХРАНЕНИЕ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Неоткрытые наборы хранить при 2-8°C до истечения срока годности вместе с микропланшеткой в запечатанной упаковке с дессикантом, 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 розмаха 10 нм или меньше, оптической плотностью 0-2 ОП или больше при длине волны 450 нм.

### ПОДГОТОВКА 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 (18-25°C) 30 мин.
6. Опустошите лунки, вытряхиванием 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 TMB 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 МЕ/мл на оси X на графической бумаге. Используя среднюю абсорбцию для каждого образца, определите соответствующую концентрацию IgE в МЕ/мл на стандартной кривой.

### ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

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

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

*ПРИМЕР КРИВОЙ СМ. В ОРИГИНАЛЕ ИНСТРУКЦИИ*

**ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ**

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

**ЛИТЕРАТУРА**

*(См. в оригинале инструкции).*

**ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:**

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
**Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005**  
**Тел.: (0342) 775122**  
**Тел/факс: (0342) 775612**  
**E-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)**  
**[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)**