



**Vitrotest**<sup>®</sup>

# **Vitrotest Specific-IgE**

**Імуноферментна тест-система для кількісного визначення специфічних антитіл класу IgE**

## **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

TK071

**Варіант комплектації 192-1T**

## «Vitrotest Specific-IgE»

### Імуноферментна тест-система для кількісного визначення специфічних антитіл класу IgE

#### 1. Призначення

Імуноферментна тест-система «Vitrotest Specific-IgE» призначена для кількісного визначення вмісту специфічних антитіл класу IgE у сироватці чи плазмі крові людини. Використовується разом з біотинільованими алергенами виробництва ТОВ «ІВК «Рамінтек».

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

За даними ВООЗ, на теперішній час у 30-40% населення світу зустрічаються одне чи декілька алергічних захворювань, лише від астми щорічно гине приблизно 250 тисяч людей. Алергія – підвищена чутливість організму до певної речовини (алергену), що виникає при повторному контакті організму з цим алергеном. В Україні відсутня реальна статистика алергічних захворювань. Тим не менш, якщо орієнтуватися на дані вітчизняних та закордонних джерел, розповсюдження алергії у нашій країні складає 20-30% (не менше ніж 10 млн громадян). Стрімке зростання кількості алергічних захворювань пов'язане з посиленням алергенного навантаження на людину. Гіперсенситибілізацію можуть викликати пилок рослин, 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.

Найбільш розповсюдженими проявами алергії, за даними ВООЗ, є алергічний риніт (10-30% популяції), алергічний кон'юнктивіт, риносинусит, астма (до 20%), харчова алергія (220-520 млн людей), анафілаксія, кропив'янка і набряк Квінке, алергія на отрути жалких комах (часто з летальним результатом), лікарська та професійна алергія. У дітей алергічні захворювання займають перше місце серед хронічних захворювань, причому основну їх частину складає харчова алергія (від 5 до 15% дітей).

Усі зазначені вище прояви алергічних захворювань належать до алергічної реакції анафілактичного (негайного) типу. В її основі лежить реакційний механізм пошкодження тканин, що протікає зазвичай за участю антитіл класу IgE, рідше IgG4 на поверхні мастоцитів і базофілів. Реакція анафілактичного типу протікає в 3 фази: 1 – імунна фаза (алергени, що потрапляють до сенситивізованого організму, з'єднуються з IgE, фіксованими на базофілах і мастоцитах, в результаті чого змінюються властивості клітинних мембран); 2 – патохімічна або біохімічна фаза (відбувається дегрануляція мастоцитів і базофілів з виділенням великої кількості медіаторів); 3 – патофізіологічна фаза (дія медіаторів на органи і тканини). Клінічні прояви реакції виникають протягом перших двох годин після контакту зі специфічним алергеном.

Сьогодні все більшої популярності набувають методи діагностики алергії *in vitro*, одним з яких є імуноферментний аналіз (ІФА), що дозволяє визначати вміст загального IgE і алерген-специфічних IgE у сироватці чи плазмі крові людини. Цей метод характеризується низкою переваг: не має протипоказань до обстеження і вікових обмежень, не викликає додаткової сенситибілізації та анафілактичних реакцій, характеризується високою чутливістю та специфічністю.

Визначення рівня специфічних IgE слід проводити при необхідності оцінки чутливості до певного алергену чи невідповідності результатів шкірних проб даним анамнезу. Виявлення специфічних IgE застосовується також при диференційній діагностиці IgE-залежних алергічних реакцій, особливо у випадку харчової алергії. Нерідко зустрічаються випадки, коли пацієнт має підвищену чутливість лише до одного алергену, в результаті чого загальний рівень IgE може бути в межах норми, тоді як шкірна проба і результати ІФА на виявлення специфічних IgE будуть позитивними.

#### 3. Принцип аналізу

Кількісне визначення алерген-специфічних IgE базується на принципі «capture»-варіанту твердофазного ІФА з використанням тест-системи «Vitrotest Specific-IgE» та біотинільованих алергенів.

Твердою фазою в тест-системі «Vitrotest Specific-IgE» є стрипований ІФА-планшет з попередньо засорбованими в лунках першими моноклональними антитілами, специфічними до IgE людини. Лунки планшету використовуються як для визначення IgE за допомогою біотинільованих алергенів, так і для побудови калібрувального графіку. Калібратори вносять в лунки перших стрипів, а досліджувані зразки – в усі інші лунки. Під час інкубації калібраторів та досліджуваних зразків в лунках ІФА-планшету відбувається «захват» IgE моноклональними антитілами на твердій фазі. Після відмивання нез'язаних компонентів у лунки з калібраторами вносять біотинільовані моноклональні анти-IgE антитіла, а в лунки із досліджуваними зразками – різні біотинільовані алергени. Під час інкубації в лунках із калібраторами утворюється «сандвіч»: анти-IgE + IgE + анти-IgE-біотин, а в лунках із досліджуваними зразками - комплекс: анти-IgE + IgE + алерген-біотин. Після відмивання в лунки додають кон'югат стрептавідину з пероксидазою хрому, що зв'язується з біотином в складі комплексу, утвореного на твердій фазі. Нез'язані компоненти видаляються під час відмивання планшету. 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. Реакцію зупиняють додаванням стоп-реагенту, при цьому синій колір забарвлених лунок змінюється на жовтий. Результат аналізу визначають на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620 нм.

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

#### 4. Матеріали та обладнання

##### 4.1 Склад набору

**ІФА-планшет** – 2 планшети по 96 лунок (з можливістю відокремлення кожної лунки), з іммобілізованими моноклональними антитілами до антитіл класу IgE людини.

**Калібратор K0** – 1 мікропробірка, що містить 0,7 мл сироватки крові, що не містить IgE.

**Калібратор K0,35** – 1 мікропробірка, що містить 0,7 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 0,35 МО/мл.

**Калібратор K1** – 1 мікропробірка, що містить 0,7 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 1 МО/мл.

**Калібратор K5** – 1 мікропробірка, що містить 0,7 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 5 МО/мл.

**Калібратор K25** – 1 мікропробірка, що містить 0,7 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 25 МО/мл.

**Калібратор K100** – 1 мікропробірка, що містить 0,7 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 100 МО/мл.

**Контрольна сироватка (КС)** – 1 мікропробірка, що містить 0,7 мл сироватки крові з вмістом IgE у концентрації 2-3 МО/мл (жовтий).

**Розчин для розведення сироваток (PPC)** – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину з детергентом та консервантами (фіолетовий).

**Розчин біотинільованих анти-IgE антитіл** – 1 флакон, що містить 10 мл буферного розчину біотинільованих моноклональних антитіл до IgE людини, зі стабілізатором та консервантами (рожевий). Готовий до використання.

**Розчин кон'югату стрептавідин-пероксидаза (PK)** – 1 флакон, що містить 22 мл буферного розчину стрептавідину, кон'югованого з пероксидазою хрому, зі стабілізатором та консервантами (зелений). Готовий до використання.

**Розчин ТМБ** – 1 флакон, що містить 22 мл розчину ТМБ і перекису водню зі стабілізатором та консервантом (безбарвний).

**Розчин для промивання Tw20 (20x)** – 2 флакони, що містять 50 мл 20-ти кратного концентрату фосфатного буферу з Твіном-20 (безбарвний).

**Стоп-реагент** – 1 флакон, що містить 22 мл розчину 0,5M сірчаної кислоти (безбарвний).

**Клейка плівка** – 6 аркушів плівки для заклеювання планшетів під час інкубації.

**Бланк внесення проб** – 2 аркуші для запису схеми внесення зразків.

**Бланк для калібрувального графіку** – 2 аркуші для побудови калібрувального графіку

**Інструкція** – 1 екземпляр інструкції з використання.

##### 4.2 Додаткові реактиви, матеріали та обладнання

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

– **Біотинільовані алергени виробництва ТОВ «ІВК «Рамінтек»** - кожний флакон містить 1,8 мл буферного розчину біотинільованих алергенів зі стабілізатором та консервантами (жовтий). Готові до використання. Перелік біотинільованих алергенів наведено в каталозі. Вмісту одного флакона достатньо для 16 визначень. На етикетках флаконів указані кодові номери та назви алергенів.

– 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;

– контейнер для твердих відходів;

– контейнер для рідких відходів;

– 1 автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);

– 2 одно- або багатоканальний спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 нм.

<sup>1,2</sup> *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 дотримуйтеся 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 розчину ТМБ 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.

**Недотримання цих вимог може призвести до хибнопозитивних чи хибнонегативних результатів.**

#### 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 та КС тест-системи «Vitrotest Specific-IgE» не містять антитіл до ВІЛ<sub>1/2</sub>, ВГС, *T. 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 та контакту розчинів ТМБ і стоп-реагенту 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 Specific-IgE» при кімнатній температурі 18-25°C протягом 30 хвилин перед використанням.*

*Тест-система «Vitrotest Specific-IgE» використовується разом з біотинільованими алергенами виробництва ТОВ «ІВК «Рамінтек», тому слід також підготувати біотинільовані алергени. Потрібно вибрати алергени, необхідні для проведення аналізу, і витримати їх 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.

### 9. Процедура аналізу

9.1. Підготувати необхідну кількість лунок для аналізу, вставити їх в рамку ІФА-планшета. Калібратори вносять в лунки перших стрипів, а в усі інші лунки – досліджувані зразки. Кількість повторів кожного зі зразків визначається кількістю досліджуваних алергенів. 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 50 мкл розчину для розведення сироваток.

9.5. Внести у відповідні лунки по 50 мкл кожного калібратора або по 50 мкл досліджуваних зразків (див. схему на останній стор.). **Під час внесення сироваток та калібраторів обережно піпетуйте суміш – відбувається зміна кольору розчину для розведення сироваток з фіолетового на синій.**

9.6. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при кімнатній температурі 18-25°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, залишити не менш як на 30 секунд;

– 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. Внести по 100 мкл розчину біотинільованих анти-IgE антитіл в лунки з калібраторами і по 100 мкл кожного біотинільованого алергену в лунки з досліджуваними зразками (див. схему на останній стор.).

9.9. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при кімнатній температурі 18-25°C.

9.10. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в п.9.7.

9.11. Внести в лунки по 100 мкл кон'югату стрептавідин-пероксидаза (PK).

9.12. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 15 хвилин при кімнатній температурі 18-25°C.

9.13. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в п.9.7.

9.14. «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.

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

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

9.17. 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 оптична густина (ОГ) кожного з перелічених в Таблиці 1 зразків знаходиться в указаному діапазоні значень та концентрація контрольної сироватки знаходиться в діапазоні, вказаному на етикетці мікропробірки (2-3 МО/мл).

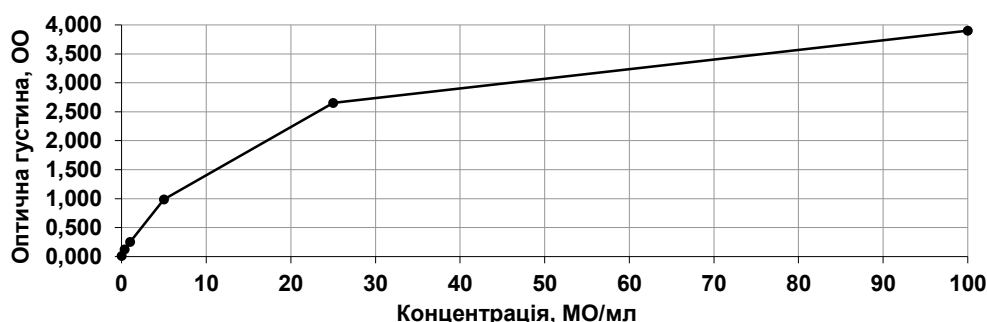
Таблиця 1

Калібратори	Значення ОГ
K0	не вище 0,07 00, тобто, $ОГ K0 \leq 0,07$
K0,35	не нижче 0,1 00, тобто, $ОГ K0,35 \geq 0,1$
K1	не нижче 0,2 00, тобто, $ОГ K1 \geq 0,2$
K5	не нижче 0,7 00, тобто, $ОГ K5 \geq 0,7$
K25	не нижче 1,0 00, тобто, $ОГ K25 \geq 1,0$
K100	не нижче 1,7 00, тобто, $ОГ K100 \geq 1,7$

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

### 10.2. Облік результатів аналізу.

Для отримання кількісних результатів визначення концентрації специфічних IgE в МО/мл побудуйте калібрувальний графік: на осі ОУ відкладіть значення ОГ шести калібраторів K0; K0,35; K1; K5; K25 та K100, а на осі ОХ – відповідні їм концентрації – 0; 0,35; 1; 5; 25; 100 МО/мл, відповідно. За допомогою калібрувального графіку визначте концентрацію (МО/мл) специфічних IgE у досліджуваних зразках, яка відповідає значенню отриманої ОГ. Приклад калібрувального графіку наведено на рисунку.



Примітка:  
не використовуйте цей графік для визначення концентрації специфічних IgE у Вашому аналізі.

Калібрувальні зразки стандартизовані за 2-м Міжнародним стандартом ВООЗ 75/502 для загального IgE. **Оскільки не існує міжнародної стандартизації як для одиниць вимірювання специфічних IgE, так і для значень референтних алергенів, то концентрації специфічних IgE, отримані різними методами, можуть відрізнятись. Відповідно, потрібно бути обережними при порівнянні результатів різних методів.**

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

### 10.3. Інтерпретація результатів.

Результати визначення концентрації специфічних IgE в МО/мл інтерпретують наступним чином:

Концентрація	Результат
< 0,35 МО/мл	не виявлені
0,35-1 МО/мл	низький рівень
1,1-5 МО/мл	середній рівень
5,1-100 МО/мл	високий рівень
>100 МО/мл	дуже високий рівень

## 11. Діагностичні характеристики тесту

### 11.1. Специфічність та чутливість

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

Для верифікації специфічної реактивності тест-набору «Vitrotest Specific-IgE» використовували контрольну сироватку BIOREF-AL20, що містить алерген-специфічні IgE (BIOREF GmbH, Німеччина). Даний зразок пропонується виробником у двох клінічно значущих діапазонах концентрацій IgE (Рівень 1 та 2). Вміст специфічних IgE наведено нижче в графі «Допустимий діапазон».

Код алергену	Назва алергену	Рівень 1, МО/мл		Рівень 2, МО/мл	
		Допустимий діапазон	Отримані дані	Допустимий діапазон	Отримані дані
D1	Кліщ домашнього пилу <i>D.pteronyssinus</i>	0,27-1,28	<b>0,98</b>	1,9-9,1	<b>7,13</b>
D2	Кліщ домашнього пилу <i>D.farinae</i>	1,18-5,58	<b>1,43</b>	9,8-46,2	<b>10,9</b>
E2	Епітелій кішки	0,44-2,06	<b>1,42</b>	3,2-15,1	<b>5,5</b>
G6	Пилок тимофіївки лугової	0,79-3,74	<b>1,59</b>	7,2-33,8	<b>8,41</b>
G12	Пилок жита посівного	0,50-2,34	<b>1,02</b>	4,4-20,6	<b>7,96</b>
F2	Коров'яче молоко	0,41-1,91	<b>1,62</b>	3,4-16,0	<b>3,9</b>
F13	Арахіс	0,64-3,04	<b>0,82</b>	3,6-17	<b>3,84</b>

### 11.2. Точність

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

Коефіцієнт варіації (**CV**) для сироваток, що містять IgE, специфічні до різних алергенів, оцінювали в 8 повторях (для кожної сироватки) на двох серіях тест-систем - **CV<sub>1</sub>** та **CV<sub>2</sub>**.

*Відтворюваність результатів між різними постановками аналізу (Inter assay reproducibility)*

Коефіцієнт варіації (**CV**) для сироваток, що містять IgE, специфічні до різних алергенів, оцінювали протягом двох днів в двох постановках аналізу, по 8 повторів в кожному аналізі - **CV<sub>3</sub>**.

В таблиці наведено результати отримані для деяких алергенів, що належать до різних груп:

Код алергену	Назва алергену	№ сироватки	CV <sub>1</sub> , %	CV <sub>2</sub> , %	CV <sub>3</sub> , %
D1	Кліщ домашнього пилу <i>D. pteronyssinus</i>	59	2,9	4,8	6,3
		172	2,1	3,0	2,9
E2	Епітелій кішки	75	3,4	2,8	3,1
		42	1,6	1,8	2,0
T3	Пилок берези	53	3,6	3,1	3,3
		405	2,7	2,3	2,6
W1	Пилок амброзії	13	3,6	4,9	5,6
		17	6,6	6,8	7,2
F1	Білок курячого яйця	176	2,0	1,9	3,6
		128	1,8	1,7	2,2

## 12. Обмеження аналізу

Коректні результати аналізу можна отримати лише за умови повного дотримання рекомендацій інструкції до тест-системи «Vitrotest Specific-IgE». Не можна використовувати в аналізі зразки сироваток із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактерійним проростом.

Проведені дослідження з виявлення алерген-специфічних IgE показали ефективність визначення алергенів, що викликали гіперсенсibiliзацію, для клінічної оцінки алергічних станів. **Проте жоден результат виявлення специфічних**

**IgE не гарантує відсутності чи наявності алергічних захворювань.** Остаточний діагноз може бути встановлено лише з урахуванням клінічних проявів, історії хвороби та даних комплексу лабораторних досліджень.

Афінні константи специфічних IgE можуть бути різними для різних алергенів, тому необхідно мати на увазі, що ідентичні результати для різних алергенів можуть не відповідати клінічному стану.

Значення концентрацій специфічних IgE, отриманих в тест-системах різних виробників, можуть відрізнятися через відмінності в методах аналізу і специфічності реагентів (особливо алергенів, залежно від способу їх отримання). Тобто концентрації алерген-специфічних IgE, отримані в різних аналізах, не можуть бути рівнозначними.

Слід зазначити, що при харчовій алергії навіть за наявності чіткої клінічної картини, специфічні IgE можуть не виявлятися, оскільки реакція може розвиватися як за IgE-опосередкованим механізмом, так і без участі IgE.

Слід також пам'ятати, що IgE, специфічні до певного алергену, можуть виявляти перехресні реакції в межах групи, що обумовлено наявністю в них спільних антигенних детермінант.












При виявленні у пацієнта специфічних IgE одночасно до великої кількості алергенів різного походження слід розглянути можливість підвищеної чутливості до вітаміну Н (біотину) та провести додаткове дослідження.

## Література

1. 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.
2. Дранник Г.Н., Кайдашев І.П., Пухлик Б.М., Чоп'як В.В. Европейская декларация по иммунотерапии. Клиническая иммунология// Аллергология. Инфектология. - 2011. - № 6-7. – С. 5-13.
3. Пухлик Б.М. Аллергия – проблема не только аллергологов // Запорожский медицинский журнал. – 2011. - Т.13, №2. – С.108-110.
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. Gould H.G., Sutton B.J. IgE in allergy and asthma today// Nat. Rev. Immunol. – 2008. - V.8, N3. – P. 205-217.
6. Ройт А., Брестофф Дж., Мейл Д. «Иммунология». Пер. с англ. — М.: «Мир», 2000. — 592 с.
7. Plebani M., Borghesan F., Bernardi D., Faggian D. Clinical evaluation of a new quantitative method for specific IgE antibodies// Eur. J. Clin. Biochem. – 1996. – №24. – P. 579-584.
8. Deo S.S., Mistry K.J., Kakade A.M., Niphadkar P.V. Relationship of total IgE, specific IgE, skin test reactivity and eosinophils in indian patients with allergy// J.IACM. - 2010. - V.11, №4. - P. 265-271.
9. Dixon H.S. Treatment of delayed food allergy based on specific immunoglobulin G RAST testing// Otolaryngology–Head and Neck Surgery. – 2000. – V. 123, № 1, Part 1. - P.48-54.
10. Woods R.K., Abramson M., Raven J.M., Bailey M., Weiner J.M., Walters E.H. Reported food intolerance and respiratory symptoms in young adults// Eur Respir J. – 1998. – V. 11. – P. 151–155.
11. Sampson H.A. Food allergy// J. Allergy Clin. Immunol. – 2003. – V.111, №2. – P. 540-547.
12. Sicherer S.H., Sampson H.A. Food allergy// J. Allergy Clin. Immunol. – 2010. - V.125, №2. – P. 116-125.

## 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»

Редакція 4 від 19.08.2015 р.

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 Specific-IgE» з використанням біотинільованих алергенів

Витримати всі реагенти тест-системи «Vitrotest Specific-IgE» та біотинільовані алергени при кімнатній температурі 18-25°C протягом 30 хвилин

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 50 мкл розчину для розведення сироваток (фіолетовий)

### Лунки для калібраторів

внести по 50 мкл кожного калібратора

### Лунки для досліджуваних зразків

внести по 50 мкл кожного з досліджуваних зразків

*відбувається зміна кольору розчину в лунках з фіолетового на синій*

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при кімнатній температурі 18-25°C

Промити лунки 5 разів

### Лунки для калібраторів

внести по 100 мкл розчину біотинільованих анти-IgE антитіл

### Лунки для досліджуваних зразків

внести по 100 мкл біотинільованого алергену

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при кімнатній температурі 18-25°C

Промити лунки 5 разів

Внести в лунки по 100 мкл кон'югату стрептавідину з пероксидазою (PK)

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 15 хв. при кімнатній температурі 18-25°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину ТМБ

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 калібрувальний графік: на осі ОУ відкласти значення ОГ калібраторів K0; K0,35; K1; K5; K25 та K100, а на осі ОХ – відповідні їм концентрації – 0; 0,35; 1; 5; 25; 100 МО/мл, відповідно

За допомогою калібрувального графіку визначити концентрацію (МО/мл) специфічних IgE у досліджуваних зразках, яка відповідає значенню отриманої ОГ

Провести облік результатів аналізу згідно таблиці

<i>Концентрація</i>	<i>Результат</i>
< 0,35 МО/мл	не виявлені
0,35-1 МО/мл	низький рівень
1,1-5 МО/мл	середній рівень
5,1-100 МО/мл	високий рівень
>100 МО/мл	дуже високий рівень