

«УТВЕРЖДЕНА»

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора
от «__» ____ 20__ г. № ____



Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
Швырев М.В.
13 апреля 2011 г.

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgE
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
(«АллергоИФА-специфические IgE»)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «АллергоИФА-специфические IgE» предназначен для количественного определения аллерген-специфических иммуноглобулинов E (далее IgE) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Иммуноглобулины класса E участвуют в возникновении и развитии аллергических реакций. Эти антитела, связывая аллерген, приобретают способность стимулировать выделение базофилами ряда вазоактивных веществ, которые определяют развитие аллергической симптоматики. Выявление и количественное определение концентрации свободных аллерген-специфических IgE имеет большое значение при диагностике и исследовании аллергических заболеваний, для выбора адекватной терапии.

1.3. Набор «АллергоИФА-специфические IgE» рассчитан на проведение анализа 80 неизвестных проб в монопликатах, 6 калибровочных проб, одной пробы для определения оптической плотности раствора ТМБ и одной пробы контрольной сыворотки в дубликатах при использовании всех стрипов одновременно (всего 96 определений).

Примечание: в случае дробного применения набор может быть использован только в течение двух месяцев после вскрытия компонентов набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

В наборе «АллергоИФА-специфические IgE» для выявления IgE-антител, специфичных к конкретным аллергенам, использованы два варианта твердофазного иммуноферментного анализа (Рисунок 1). В лунках, предназначенных для калибровочных проб, реализован «сэндвич»-вариант анализа. Для этого использованы два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к иммуноглобулинам класса E, а также конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена. Одно из моноклональных антител иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок) (на Рисунке 1: MAT1), второе конъюгировано с эфиром биотина (на Рисунке 1: MAT2). Во время первой инкубации в этих лунках одновременно происходят иммобилизация на твердой фазе и связывание с конъюгатом анти-IgE-биотин молекул IgE (на Рисунке 1: общий IgE), содержащихся в калибровочных пробах. В лунках, предназначенных для образцов сыворотки крови, реализован «capture»-вариант иммуноферментного анализа. Для выявления IgE к конкретным аллергенам (на Рисунке 1: специфический IgE) используются одно моноклональное антитело, специфичное к иммуноглобулинам класса E и иммобилизованное на твердой фазе (внутренняя поверхность

лунок) (на Рисунке 1: MAT1), а также биотинилированные аллергены по выбору лечащего врача вместо конъюгированного с эфиром биотина антитела и конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена. В лунках с исследуемыми образцами во время первой инкубации происходит иммобилизация разных молекул IgE, содержащихся в сыворотке крови, на твердой фазе. Если среди них имеются IgE, специфичные к выбранным аллергенам, то одновременно происходит их связывание с биотинилированным аллергеном.



Рисунок 1. Схема анализа

При промывке планшета из лунок с калибровочными пробами удаляется избыток конъюгата анти-IgE-биотин, из лунок с образцами сыворотки крови — избыток биотинилированных аллергенов. Во время второй инкубации конъюгат стрептавидин-пероксидаза связывается с биотинилированными антителами в лунках с калибровочными пробами и с биотинилированным аллергеном в лунках с исследуемыми образцами. Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой. Количество связавшегося аллергена и конъюгата стрептавидин-пероксидаза прямо пропорционально количеству специфических IgE в исследуемых образцах (Рисунок 1).

Во время инкубации с ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связанного конъюгата стрептавидин-пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочных графиков, построенных с использованием значений оптических плотностей, полученных при длинах волн 450 нм и 405 нм, рассчитывается концентрация специфических IgE в исследуемых образцах.

2.2. Состав набора

- комплект из двенадцати восьмилуночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к IgE человека, маркирован «Стрипы с моноклональными антителами к IgE» — 1 упаковка;

- калибровочные пробы (КП), аттестованные по Второму международному стандарту (The 2nd International Reference Preparation Human Serum Immunoglobulin E, 75/502), содержащие известные количества IgE. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; точные значения концентраций IgE в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов, ориентировочные — 0; 0,5; 1; 5; 25; 100 МЕ/мл — 6 флаконов (лиофилизированные препараты или жидкости по 0,5 мл);

- конъюгат анти-IgE- биотин, маркирован «Конъюгат Е-1» — 1 флакон (7 мл);
- конъюгат стрептавидин-пероксидаза, маркирован «Конъюгат Е-2» - 1 флакон (18 мл);
- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер Р» — 2 флакона (14 мл);
- раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ» — 1 флакон (14 мл);

- стоп-реагент (1 Н соляная кислота), маркирован «Стоп-реагент» — 1 флакон (14 мл);
 - контрольная сыворотка с известным содержанием IgE, маркирована «Контрольная сыворотка» — 1 флакон (лиофилизированный препарат или жидкость, 0,5 мл);
 - прозрачный пластиковый пакет с замком (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена) — 1 штука;
 - биотинилированные аллергены (далее аллергены) — лиофилизированные препараты или жидкости по 3 мл во флаконе. На этикетках флаконов указаны кодовые номера и названия аллергенов. Содержимого одного флакона достаточно для 26-ти определений.
- Поставляются отдельно.*

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Не обнаружено перекрестной реакции моноклональных антител к IgE с IgA, IgG, IgM и IgD.

3.2. Коэффициент вариации результатов определения аллерген-специфических иммуноглобулинов E в одном и том же образце сыворотки крови человека с использованием набора «АллергоИФА-специфические IgE» не превышает 8%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации аллерген-специфических иммуноглобулинов E в образцах сыворотки крови при разведении их калибровочной пробой №1 имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №2 - №6 и составляет 90-110 %.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» IgE — проверка соответствия значения определяемой концентрации общего IgE расчетной величине, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы №3. Процент открытия составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация IgE в сыворотке крови человека не превышает 0,15 МЕ/мл.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 1.

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.3. При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

4.4. Стоп-реагент представляет собой 1 Н раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.5. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. производные крови, входящие в состав набора, и исследуемые образцы являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций.

4.6. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

4.7. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длинах волн 450 нм, 405 нм и 620 нм

(референтная длина волны). Применение длины волны 620 нм не является обязательным, но предпочтительнее, поскольку позволяет обнаружить интерференцию пластика;

- прибор для встряхивания рамки со стрипами (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 400–800 об/мин при температуре +37°C;

- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 40–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл;

- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл;

- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 50-500 мл;

- стакан стеклянный подходящего объема;

- вода дистиллированная;

- бумага фильтровальная;

- перчатки резиновые или пластиковые;

- 1% раствор гипохлорита натрия или 6% раствор перекиси водорода;

- контейнер для дезинфекции;

- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Забор крови из вены осуществляют с соблюдением правил асептики. После формирования сгустка сыворотку отделяют путем центрифугирования. После центрифугирования сыворотку переносят в отдельную пробирку.

6.2. Для проведения анализа не разрешается использовать плазму крови, гемолизированную или мутную сыворотку, а также образцы сыворотки, содержащие азид натрия.

6.3. Образцы сыворотки крови разрешается хранить при температуре +2...8°C не более 2-х суток; при необходимости более длительного хранения (до 3-х месяцев) рекомендуется аликвотировать образец и хранить в замороженном виде при температуре –20°C и ниже. Не допускается повторное замораживание образца.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка реагентов

7.1.1. Стрипы. Перед вскрытием пакет со стрипами необходимо выдержать при комнатной температуре (+18...25°C) не менее 30 минут. Вскрыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов.

7.1.2. Жидкие калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию.

Для восстановления лиофилизированных калибровочных проб и контрольной сыворотки перед вскрытием флаконов легким постукиванием стряхнуть частицы, прилипшие к стенкам флаконов или к крышкам. Открыть флаконы и положить крышки перевернутыми на сухую поверхность. В каждый флакон с калибровочной пробой и контрольной сывороткой внести по 0,5 мл дистиллированной воды и закрыть крышками. Выдержать флаконы в течение 10 минут при комнатной температуре без перемешивания. Затем, аккуратно наклоняя и вращая флаконы, перемешать их содержимое до полного растворения, избегая пенообразования. В течение следующих 10 минут выдержать флаконы при комнатной температуре, периодически перемешивая.

7.1.3. Конъюгат Е-1 готов к использованию. Расход конъюгата Е-1 на один стрип составляет 0,875 мл.

7.1.4. Конъюгат Е-2 готов к использованию. Расход конъюгата Е-2 на один стрип

составляет 1,5 мл.

7.1.5. Промывочный раствор. Необходимое количество буфера Р развести дистиллированной водой в 20 раз.

Например: 5 мл буфера Р + 95 мл дистиллированной воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

7.1.6. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию. Расход ТМБ на один стрип составляет 1,15 мл.

7.1.7. Стоп-реагент готов к использованию. Расход стоп-реагента на один стрип составляет 1,15 мл.

7.1.8. Растворы аллергенов. Жидкие аллергены готовы к использованию.

Для восстановления лиофилизированных аллергенов перед вскрытием флаконов легким постукиванием стряхнуть частицы, прилипшие к стенкам флаконов или к пробкам. Открыть флаконы и положить пробки перевернутыми на сухую поверхность. В каждый флакон с аллергеном внести по 3,0 мл дистиллированной воды и закрыть пробкой. Выдержать флаконы в течение 10 минут при комнатной температуре (+18...25°C). Затем, аккуратно наклоняя и вращая флаконы, перемешать их содержимое до полного растворения, избегая пенообразования. В течение следующих 10 минут выдержать флаконы при комнатной температуре, периодически перемешивая.

7.1.9. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры.

На странице 12 приведена схема проведения анализа.

7.2. Постановка анализа

7.2.1. Составить протокол маркировки лунок. Лунки промаркировать следующим образом:

A1, A2 – № 1 – для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ;

B1, B2 – № 2 – для измерения величины оптической плотности КП №1;

C1, C2 – № 3 – для измерения величины оптической плотности КП №2;

D1, D2 – № 4 – для измерения величины оптической плотности КП №3;

E1, E2 – № 5 – для измерения величины оптической плотности КП №4;

F1, F2 – № 6 – для измерения величины оптической плотности КП №5;

G1, G2 – № 7 – для измерения величины оптической плотности КП №6;

H1, H2 – № 8 – для измерения величины оптической плотности контрольной сыворотки.

7.2.2. Внести в соответствующие лунки по 50 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки - по 50 мкл исследуемой сыворотки крови.

Количество лунок, заполняемых каждой из исследуемых сывороток, определяется количеством аллергенов, на наличие специфических IgE к которым исследуется образец. При этом определение аллерген-специфических IgE производится из расчета 1 лунка для каждого аллергена.

7.2.3. В лунки, содержащие калибровочные пробы и контрольную сыворотку, внести по 100 мкл конъюгата E-1.

7.2.4. В лунки с исследуемыми сыворотками крови внести по 100 мкл растворов требуемых аллергенов в соответствии с намеченной схемой.

7.2.5. Инкубировать стрипы при встряхивании в течение 60 минут в термостатируемом шейкере при температуре +37°C со скоростью 500–800 об/мин.

***Примечание:** общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых сывороток крови не должно превышать 15 минут, а общее время внесения*

аллергенов не должно превышать 10 минут, иначе время инкубации разных образцов будет значительно отличаться, что приведет к неправильным результатам.

7.2.6. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором (1% раствором гипохлорита натрия или 6% раствором перекиси водорода) и промыть лунки пять раз. При каждой промывке во все лунки добавлять по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по п. 7.1.5, встряхнуть рамку на шейкере в течение 5–10 секунд с последующим декантированием. После последнего декантирования тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Допускается промывка лунок при помощи автоматического промывочного устройства.

7.2.7. Во все лунки, кроме лунок A1 и A2, внести по 150 мкл конъюгата Е-2.

7.2.8. Инкубировать стрипы в течение 30 минут в **термостатируемом шейкере при температуре +37°C со скоростью 500–800 об/мин.**

7.2.9. По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок декантированием и промыть лунки согласно п. 7.2.6.

7.2.10. Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать стрипы в темноте в течение 15 минут в **термостатируемом шейкере при температуре +37°C со скоростью 500–800 об/мин.**

7.2.11. Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции, перемешать **на шейкере в течение 1–2 минут при комнатной температуре (+18...25°C).**

7.2.12. Если невозможно измерить оптическую плотность в лунках планшета непосредственно после выполнения п. 7.2.11., то следует иметь в виду, что окраска в лунках планшета стабильна не более 20 минут при температуре +18...25°C.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность раствора в лунках при длинах волн: 450 нм и 405 нм.

При регистрации результатов **необходимо вычитать** величину оптической плотности в лунках A1 и A2 из значений оптических плотностей всех остальных лунок.

Примечание: среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках A1 и A2 не должно превышать 0,09 ед.ОП при 450 нм.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить два калибровочных графика зависимости оптических плотностей (В, ед.опт. плотн.) от концентрации IgE (МЕ/мл) в калибровочных пробах: для построения калибровочного графика №1 используют результаты измерения проб В₁...В₅ при длине волны 450 нм (Рисунок 2А), для построения калибровочного графика №2 – результаты измерения проб В₁...В₆ при длине волны 405 нм (Рисунок 2Б).

Примечание 1: для построения калибровочных графиков рекомендуется использовать Программное обеспечение «ИФА Мастер».

Примечание 2: Если программа фотометра не позволяет вычитать среднее арифметическое значение оптической плотности лунок A1 и A2, то необходимо пользоваться формулой:

$$B - B_T, \quad (1)$$

где B – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы,

B_T – среднее арифметическое значение оптической плотности лунок A1 и A2.

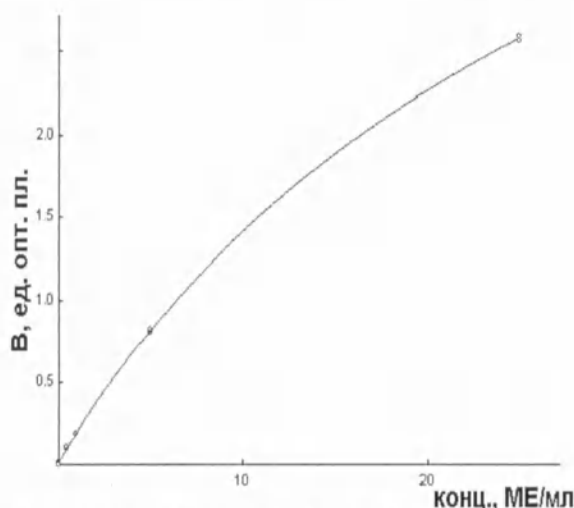


Рисунок 2А. Типичный калибровочный график при длине волны 450 нм

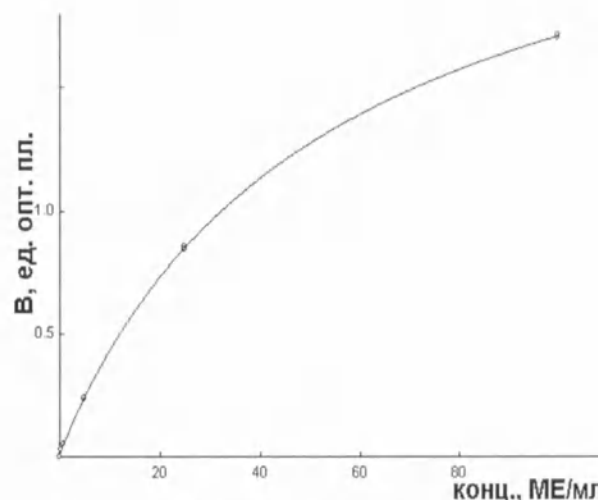


Рисунок 2Б. Типичный калибровочный график при длине волны 405 нм

Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!

9.2. Определение концентрации аналита в калибровочных и исследуемых пробах производить следующим образом:

- если значение оптической плотности пробы, измеренной при 450 нм, составляет менее 2,3 ед.опт.пл., то для вычислений следует использовать калибровочный график №1;
- если значение оптической плотности пробы при длине волны 450 нм больше 2,3 ед.опт.пл., вычисления производят по калибровочному графику №2.

Примечание: при применении референтной длины волны 620 нм оптическую плотность каждой калибровочной пробы, полученную при референтной длине, вычитают из оптической плотности, полученной при основной длине волны. Для построения калибровочных графиков №1 и №2 пользуются оптическими плотностями, полученными в результате вычитания: $\Delta = (450 \text{ нм} - 620 \text{ нм})$ или $\Delta = (405 \text{ нм} - 620 \text{ нм})$, соответственно.

9.3. Критерии достоверности анализа

Результаты анализа считают достоверными при соблюдении следующих условий:

- Оптическая плотность каждого из указанных в Таблице 1 образцов находится в указанном интервале значений.

Таблица 1

Наименование образца	Длина волны	Допустимый интервал значений ОП (ед.опт.пл.)
ТМБ	450 нм	$\leq 0,090$
Калибровочная проба № 1	450 нм	$\leq 0,03$
Калибровочная проба № 2	450 нм	0,079 — 0,209
Калибровочная проба № 3	450 нм	0,165 — 0,378
Калибровочная проба № 4	450 нм	0,615 — 1,665
Калибровочная проба № 5	450 нм	$\geq 2,300$
Калибровочная проба № 6	405 нм	$\geq 1,018$

- Концентрация контрольной сыворотки находится в диапазоне, указанном на этикетке соответствующего флакона.

Если полученные данные выходят за пределы указанных значений, результаты анализа считают недостоверными и анализ повторяют.

9.4. Интерпретация результатов

Для клинических целей концентрации специфических IgE оценивают следующим образом:

Таблица 2

Концентрация IgE, МЕ/мл	Класс	Уровень специфического IgE
$\leq 0,35$	0	Клинически не значимый
0,36 — 0,5	0 — 1	Очень низкий
0,51 — 1,0	1	Низкий
1,1 — 5,0	2	Средний
5,1 — 25	3	Высокий
25,1 — 75	4	Очень высокий
> 75	5	Исключительно высокий

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор «АллергоИФА-специфические IgE» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 15 суток.

Срок годности набора — 12 месяцев.

10.2. Набор следует вынимать из холодильника не более чем за 1 час до начала анализа, но не позже, чем за 30 минут до проведения анализа.

10.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

- стрипы поместить сначала в пакет с этикеткой, затем в пластиковый пакет с замком и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;

- жидкие, готовые к использованию, калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более двух месяцев;

- восстановленные (растворенные) из лиофилизированных препаратов калибровочные пробы и контрольную сыворотку хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более двух месяцев;

- конъюгаты Е-1, Е-2 и раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более двух месяцев;

- промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре ($+18...25^{\circ}\text{C}$) не более 5 суток;

- буфер Р и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности.

10.4. Срок годности каждого аллергена указан на этикетке флакона. Стабильность жидких и лиофилизированных аллергенов после вскрытия флаконов различна:

- вскрытые аллергены хранить плотно закрытыми при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$. При условии правильного хранения жидкие аллергены стабильны в течение всего срока годности;

- восстановленные (растворенные) из лиофилизированных препаратов аллергены хранить плотно закрытыми при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более 2-х месяцев. При необходимости более длительного хранения рекомендуется хранить при температуре -20°C до истечения срока годности. Допускается не более 4-х циклов замораживания-размораживания без потери связывающей способности.

10.5. При использовании набора для проведения нескольких независимых анализов необходимо иметь в виду следующее:

- количество независимых экспериментов, которое можно провести с помощью данного набора (4 эксперимента), ограничено объемом калибровочных проб;

- для каждого независимого эксперимента необходимо построение нового калибровочного графика и рекомендуется определение концентрации IgE в контрольной сыворотке;

- запрещается возвращать избыток конъюгатов, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;

- из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению некорректных результатов при повторном использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно закрывать крышки флаконов и помещать в рекомендуемые условия хранения.

10.6. Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных партий, за исключением ТМБ, стоп-реагента и концентрированного промывочного раствора, входящего в состав данного набора реагентов.

10.7. Запрещается использовать концентрированный промывочный раствор, стоп-реагент и ТМБ из наборов реагентов других фирм-производителей.

10.8. К работе с набором допускается только специально обученный персонал.

10.9. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ НАБОРА

Отрицательный результат анализа на специфические IgE против антибиотиков пенициллина G, пенициллина V, цефалоспорины, ампициллина и амоксициллина не исключает наличия клинической гиперчувствительности к данным аллергенам. Такой ответ может объясняться возникновением аллергической реакции, происходящей без участия IgE-антител, или неправильным выбором срока забора образцов крови (до появления специфических IgE в циркуляции или после падения их концентрации).

Отрицательный результат анализа на специфические IgE против пищевых аллергенов и против укусов ядовитых насекомых не исключает возможности последующего развития клинической гиперчувствительности по отношению к этим аллергенам.

В случаях, когда содержание общего IgE в сыворотке крови превышает 1000 МЕ/мл, измеряемые концентрации аллерген-специфических IgE могут быть несколько ниже реальных значений.

Следует помнить, что IgE, специфичные к конкретному аллергену, могут связывать другие схожие по структуре аллергены (например, пыльца березы и орехи, луговые травы и томат, амброзия и дыня, и т.д.). Это обусловлено наличием общих антигенных детерминант в аллергенах различного происхождения. При постановке диагноза эти обстоятельства должны приниматься во внимание.

По вопросам качества набора «АллергоИФА-специфические IgE» следует обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный проспект, д. 40, тел/факс: (812) 677-8779.

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»

Руководитель лаборатории разработки ИФА-систем
ООО «Компания Алкор Био»



Швырев М.В.

Сусорова А.С.

Сусорова А.С.

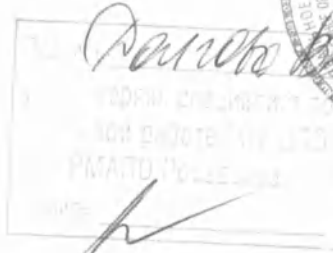
«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГОУ ДПО
«РМАПО Росздрава»



д.м.н., профессор Долгов В.В.

« 22 » 06 2011г.



Примечания к Схеме проведения анализа (стр.12):

- КП — калибровочная проба;
- КС — контрольная сыворотка;
- КТ — комнатная температура (+18...25°C);
- ПО — программное обеспечение.

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

№	Стадия (операция)	Реагенты	Температура	Время	Примечания
1	Внесение реагентов	50 мкл <i>КП, КС</i> , исследуемых образцов	<u>КТ</u> (+18 ÷ +25°C)	Внесение КП, КС и исследуемых образцов не более 15'; внесение аллергенов не более 10'	- Конъюгат Е-1 НЕ вносится в лунки А1, А2 и в лунки для исследуемых образцов. - Раствор аллергенов вносится только в лунки для исследуемых образцов.
2		100 мкл <i>конъюгата Е-1</i> (в лунки КП, КС)			
3		100 мкл раствора <i>аллергенов</i>			
4	Инкубация №1	—	<u>+37°C</u>	60'	Термостатируемый шейкер, 500 – 800об/мин
5	Промывка	300 мкл в лунку 1*промывочного раствора (5 раз)			1* промывочный раствор = 14 мл буфера Р + 266 мл Н ₂ О
6	Внесение конъюгата	150 мкл <i>конъюгата Е-2</i>			Конъюгат Е-2 НЕ вносится в лунки А1, А2 .
7	Инкубация №2	—	<u>+37°C</u>	30'	Термостатируемый шейкер, 500 – 800об/мин
8	Промывка	300 мкл в лунку 1*промывочного раствора (5 раз)			1* промывочный раствор = 14 мл буфера Р + 266 мл Н ₂ О
9	Внесение хромогена	100 мкл ТМБ			
10	Инкубация с ТМБ	—	<u>+37°C</u>	15'	Термостатируемый шейкер, 500 – 800об/мин, в темноте
11	Остановка ферментной	100 мкл <i>стоп-реагента</i>			
12	Перемешивание		<u>КТ</u>	1 – 2'	Шейкер
13	Регистрация результатов	—		В течение 20' после остановки ферментной реакции	450 нм и 405 нм (620 нм)
14	Обработка результатов				Калькулятор и масштабная бумага/ соответствующее ПО

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 12 (двенадцать) лист об

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
М.В. Швырев

