

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

От _____ 200__ г. № _____

Начальник Управления
регистрации и обеспечения
качества лекарственных средств
ФГУП «НПО «Микроген»

С.А. Коровкин
« 10 » октября 200__ г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
ИФА-IgE-ИмБио

**Тест-система иммуноферментная для количественного определения
общего иммуноглобулина Е в сыворотке (плазме) крови человека**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов ИФА-IgE-ИмБио Тест-система иммуноферментная для количественного определения общего иммуноглобулина Е в сыворотке (плазме) крови человека (далее по тексту – Набор) предназначен для количественного определения концентрации общего иммуноглобулина Е в сыворотке (плазме) крови человека.

Количественное определение общего IgE проводится для исследования иммунного статуса организма, диагностики аллергических и паразитарных заболеваний, иммунодефицитов, гипериммуноглобулинемии IgE, а также для прогноза развития атопических заболеваний у детей.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение IgE основано на принципе «сэндвич» – варианта твердофазного одностадийного иммуноферментного анализа. Моноклональные антитела к IgE человека, используемые для приготовления иммуносорбента и конъюгата, специфичны к разным участкам молекулы IgE и не дают перекрестной реакции с IgG человека.

Результаты реакции учитывают фотометрически. Концентрацию IgE в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости величины оптической плотности от содержания IgE. Эта зависимость имеет линейный характер в диапазоне концентраций от 10 до 1000 МЕ/мл, а уровень общего IgE в калибровочных пробах не должен отклоняться от номинального значения более чем на 20%.

Минимальная достоверно определяемая концентрация IgE (чувствительность) – 10 МЕ/мл и менее. 1 МЕ/мл соответствует 2,4 нг/мл.

Продолжительность анализа составляет 1,5-2 часа.

3. СОСТАВ И ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Набор состоит из 12 компонентов и рассчитан на проведение 96 определений, включая калибровочные пробы.

Компоненты	Описание	Количество
Иммуносорбент	Антитела моноклональные к IgE человека, сорбированные в лунках разборного 96-луночного планшета для ИФА из прозрачного бесцветного полистирола.	1 шт.
Конъюгат (концентрат × 50)	Антитела моноклональные к IgE человека, меченные пероксидазой, с добавлением сыворотки крови крупного рогатого скота, стабилизатор – глицерин. Прозрачная жидкость сине-зеленого цвета.	0,25 мл – 1 микропробирка
КП 0 МЕ/мл	Калибровочные пробы с известным содержанием IgE человека, содержат сыворотку крупного рогатого скота и консервант – фенол в конечной концентрации 0,2 %. Прозрачные или опалесцирующие жидкости от светло-желтого до коричневого цветов.	1,5 мл – 1 микропробирка
КП 25 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
КП 100 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
КП 250 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
КП 500 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
КП 1000 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
ФСР-Т (концентрат × 25)	Фосфатно-солевой раствор с твином, содержит натрия хлорид, натрий фосфорнокислый 2-замещенный 12-водный, твин-80. Прозрачная или опалесцирующая жидкость, бесцветная или желтого цвета, допускается образование кристаллического осадка, растворяющегося при температуре (37±1) °С в течение 30-40 мин.	24 мл – 1 флакон
ТМБ (концентрат × 50)	Раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидин в димексиде (диметилсульфоксиде). Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь желтоватый оттенок.	2,5 мл – 1 флакон
ЦБ	Цитратный буферный раствор, содержащий кислоту лимонную, моногидрат, натрий лимоннокислый 5,5-водный, перекись водорода в конечной концентрации 0,15 %. Прозрачная бесцветная жидкость.	10 мл – 1 флакон
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты в концентрации – 5 %. Прозрачная бесцветная жидкость.	5 мл – 1 флакон

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Калибровочные пробы приготовлены на основе сыворотки крови человека, проверенной на отсутствие HBsAg, антител к вирусу гепатита «С» (анти-ВГС) и антител к вирусу иммунодефицита (ВИЧ 1,2). Но исследуемые образцы могут быть потенциально опасны. Поэтому при работе следует использовать одноразовые перчатки, а образцы после проведения анализа и контактировавшие с ними посуду и наконечники обработать дезинфицирующим раствором.

Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (раствор серной кислоты 5 %), являются нетоксичными. Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. При попадании раствора на кожу и слизистые покровы следует промыть их большим количеством проточной воды.

5. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Оборудование:

- иммуноферментный анализатор, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при двух длинах волн: первая длина волны 450 нм, вторая длина волны должна находиться в диапазоне от 620 до 680 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- дозаторы пипеточные со сменными наконечниками: одноканальные, позволяющие отбирать объемы жидкости от 10 до 1000 мкл; многоканальные, позволяющие отбирать объемы жидкости от 50 до 100 мкл;
- устройство для промывки планшетов.

Материалы:

- мерный стакан или цилиндр вместимостью до 600 мл для приготовления раствора ФСР-Т;
- флаконы (пробирки) для приготовления раствора конъюгата и субстратного раствора;
- планшеты для микротитрования или флаконы (пробирки) для разведения исследуемых образцов с концентрацией IgE более 1000 МЕ/мл;
- наконечники полипропиленовые вместимостью 5-200 мкл, 200-1000 мкл;
- ванночки для работы с многоканальной пипеткой;
- крышка для планшета или полиэтиленовый пакет, или липкая пленка для закрывания стрипов при инкубации;
- перчатки одноразовые;
- вода очищенная;
- растворы хлорамина 3 % или перекиси водорода 6 % для обеззараживания;
- контейнер для обеззараживания.

6. ХРАНЕНИЕ И ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для проведения ИФА используют сыворотку (плазму) крови человека. Исследуемые образцы должны быть прозрачными или слегка опалесцирующими. Допускается использование образцов, содержащих антикоагулянты. Срок хранения образцов – не более 48 ч при температуре от 2 до 8 °С. При

необходимости образцы можно хранить в замороженном состоянии не более 1 года, а после размораживания их необходимо тщательно перемешать. Тепловая обработка образцов должна быть исключена.

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ ДЛЯ ИФА

Все компоненты Набора и исследуемые образцы перед проведением анализа должны быть выдержаны при комнатной температуре не менее 30 мин.

Приготовление рабочих растворов проводят в стеклянной посуде.

Раствор ФСР-Т готовят добавлением к концентрату ФСР-Т воды очищенной, раствор конъюгата – добавлением к концентрату конъюгата раствора ФСР-Т, субстратный раствор – добавлением к концентрату ТМБ цитратного буферного раствора (ЦБ).

Растворы готовят в зависимости от количества используемых стрипов иммуносорбента в соответствии с таблицей № 1.

Таблица № 1

Количество стрипов	Раствор ФСР-Т		Раствор конъюгата		Субстратный раствор	
	ФСР-Т (концентрат × 25), мл	Вода очищенная, мл	Конъюгат (концентрат × 50), мкл	Раствор ФСР-Т, мл	ТМБ (концентрат × 5), мл	ЦБ, мл
2	4,0	100	40	2,0	0,4	1,6
3	6,0	150	60	3,0	0,6	2,4
4	8,0	200	80	4,0	0,8	3,2
5	10,0	250	100	5,0	1,0	4,0
6	12,0	300	120	6,0	1,2	4,8
7	14,0	350	140	7,0	1,4	5,6
8	16,0	400	160	8,0	1,6	6,4
9	18,0	450	180	9,0	1,8	7,2
10	20,0	500	200	10,0	2,0	8,0
12	24,0	600	240	12,0	2,4	9,6

Приготовленный раствор ФСР-Т используют в течение 12 часов для промывания планшетов и разведения концентрата конъюгата.

Раствор конъюгата и субстратный раствор готовят непосредственно перед использованием и тщательно перемешивают.

Исследуемые образцы с концентрацией IgE более 1000 МЕ/мл предварительно разводят во флаконах (пробирках) или в лунках планшета для микротитрования калибровочной пробой 0 МЕ/мл (например, в 5 или 10 раз, добавляя к 10 мкл образца 40 или 90 мкл пробы соответственно) и перемешивают пипетированием.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

После вскрытия упаковки с планшетом в рамке устанавливают необходимое количество стрипов (оставшиеся стрипы сохраняют в закрытом полиэтиленовом пакете при температуре от 2 до 8 °С до следующей постановки) и записывают

схему расположения калибровочных проб и исследуемых образцов.

В соответствующие лунки стрипов вносят в дубликатах по 20 мкл каждой калибровочной пробы и исследуемого образца.

В каждую лунку добавляют по 100 мкл раствора конъюгата. Содержимое лунок перемешивают осторожным постукиванием по рамке в горизонтальной плоскости в течение 20-30 с.

Рамку со стрипами помещают в полиэтиленовый пакет или закрывают крышкой или липкой лентой и выдерживают в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 ч.

Время внесения калибровочных проб, исследуемых образцов и раствора конъюгата не должно превышать 15 мин. Время инкубации исчисляют с момента установки рамки со стрипами в термостат.

По окончании инкубации содержимое лунок удаляют в емкость с дезинфицирующим раствором и промывают 4-5 раз раствором ФСР-Т, наполняя лунки до краев и удаляя раствор в ту же емкость.

Во все лунки вносят по 100 мкл субстратного раствора. Выдерживают в течение 15-20 мин при температуре от 18 до 25 $^\circ\text{C}$.

Реакцию останавливают добавлением во все лунки по 50 мкл стоп-реактанта и производят учет результатов. Время между остановкой реакции и учетом результатов не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят фотометрически при двух длинах волн (первая – 450 нм, вторая длина волны должна находиться в диапазоне от 620 до 680 нм). Предварительно устанавливают «ноль» прибора по «воздуху».

Определяют средние значения оптической плотности (ОП) для каждой пары калибровочных проб и исследуемых образцов. Анализ считается правильным, если в лунках с КП 0 МЕ/мл отсутствует цветное окрашивание – показатели оптической плотности (ОП) в оптических единицах (о.е.) – не более 0,12 о.е.; показатели других КП соответствуют следующей тенденции: ОП КП 25 МЕ/мл < ОП КП 100 МЕ/мл < ОП КП 250 МЕ/мл < ОП КП 500 МЕ/мл < ОП КП 1000 МЕ/мл < 3,00 о.е.

Калибровочный график строят по средним значениям ОП калибровочных проб в координатах: ось абсцисс – концентрация IgE в МЕ/мл, ось ординат – ОП в оптических единицах.

Для каждой постановки ИФА строят отдельный калибровочный график. Используя калибровочный график, определяют значения концентрации IgE в исследуемых образцах.

В случае получения для исследуемых образцов значений ОП, не укладывающихся в калибровочный график, образцы разводят калибровочной пробой 0 МЕ/мл, повторяют определение и полученный результат умножают на величину разведения.

Средние значения возрастных норм для общего IgE:

новорожденные	– до 3 МЕ/мл;
дети до 1 года	– до 20 МЕ/мл;
1 год - 5 лет	– до 50 МЕ/мл;
5 - 10 лет	– до 60 МЕ/мл;
10 лет и старше, взрослые	– 20 - 100 МЕ/мл.

Приведенные показатели можно использовать только как ориентировочные, так как нормальные уровни общего IgE в разных популяциях и у разных групп населения могут существенно отличаться.

Примечание: многие иммуноферментные анализаторы («Dynatech MR5000», «Multiscan MCC/340») могут автоматически вычислять средние значения оптической плотности калибровочных проб, строить по ним калибровочную кривую и определять значения концентрации IgE в исследуемых образцах методом линейной интерполяции.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

Транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.1248-03. При температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 14 суток. Замораживание не допускается.

11. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности 9 месяцев.

По истечении срока годности Набор применению не подлежит.

Рекламации на качество препарата, с обязательным указанием номера серии и даты изготовления, направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора, 119002, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел. (499) 241-39-22, факс (499) 241-92-38 и в адрес предприятия-производителя - ФГУП «НПО «Микроген», 115088, г. Москва, ул. 1-ая Дубровская, д. 15, тел. (495) 710-37-87; (Адрес производства: 603950, г. Нижний Новгород, ул. Грузинская, д. 44, тел. (831) 434-42-77).

Ответственный за производство:

Директор
ФГУП «НПО «Микроген»
г.Н.Новгород



В.И.Поляков

«___» _____ 200__ г.

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью
6 листа(ов)

НАЧАЛЬНИК УПРАВЛЕНИЯ РЕГИСТРАЦИИ
И ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
С. А. Коровкин
ДОВЕРЕННОСТЬ № 44 ОТ 29.12.2008Г.

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации

« 12 » _____ 2009 г.
№ 01-11/16-09

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

ИФА-IgE-ИмБио

**Тест-система иммуноферментная для количественного определения
общего иммуноглобулина Е в сыворотке (плазме) крови человека**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов ИФА-IgE-ИмБио Тест-система иммуноферментная для количественного определения общего иммуноглобулина Е в сыворотке (плазме) крови человека (далее по тексту – Набор) предназначен для количественного определения концентрации общего иммуноглобулина Е в сыворотке (плазме) крови человека.

Количественное определение общего IgE проводится для исследования иммунного статуса организма, диагностики аллергических и паразитарных заболеваний, иммунодефицитов, гипериммуноглобулинемии IgE, а также для прогноза развития atopических заболеваний у детей.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение IgE основано на принципе «сэндвич» – варианта твердофазного одностадийного иммуноферментного анализа. Моноклональные антитела к IgE человека, используемые для приготовления иммуносорбента и конъюгата, специфичны к разным участкам молекулы IgE и не дают перекрестной реакции с IgG человека.

Результаты реакции учитывают фотометрически. Концентрацию IgE в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости величины оптической плотности от содержания IgE. Эта зависимость имеет линейный характер в диапазоне концентраций от 10 до 1000 МЕ/мл, а уровень общего IgE в калибровочных пробах не должен отклоняться от номинального значения более чем на 20%.

Минимальная достоверно определяемая концентрация IgE (чувствительность) – 10 МЕ/мл и менее. 1 МЕ/мл соответствует 2,4 нг/мл.

Продолжительность анализа составляет 1,5-2 часа.

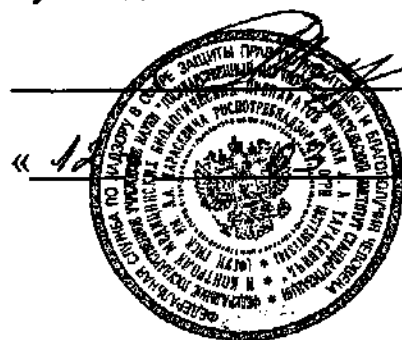
«СОГЛАСОВАНО»

Директор

ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича

Роспотребнадзора

Руководитель НОК МИБП



Н.В. Медуницын

« 18 » 200 9 г.

3. СОСТАВ И ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Набор состоит из 12 компонентов и рассчитан на проведение 96 определений, включая калибровочные пробы.

Компоненты	Описание	Количество
Иммуносорбент	Антитела моноклональные к IgE человека, сорбированные в лунках разборного 96-луночного планшета для ИФА из прозрачного бесцветного полистирола.	1 шт.
Конъюгат (концентрат × 50)	Антитела моноклональные к IgE человека, меченные пероксидазой, с добавлением сыворотки крови крупного рогатого скота, стабилизатор – глицерин. Прозрачная жидкость сине-зеленого цвета.	0,25 мл – 1 микропробирка
КП 0 МЕ/мл	Калибровочные пробы с известным содержанием IgE человека, содержат сыворотку крупного рогатого скота и консервант – фенол в конечной концентрации 0,2 %. Прозрачные или опалесцирующие жидкости от светло-желтого до коричневого цветов.	1,5 мл – 1 микропробирка
КП 25 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
КП 100 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
КП 250 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
КП 500 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
КП 1000 МЕ/мл		0,25 мл – 1 микропробирка
ФСР-Т (концентрат × 25)	Фосфатно-солевой раствор с твином, содержит натрия хлорид, натрий фосфорнокислый 2-замещенный 12-водный, твин-80. Прозрачная или опалесцирующая жидкость, бесцветная или желтого цвета, допускается образование кристаллического осадка, растворяющегося при температуре (37±1) °С в течение 30-40 мин.	24 мл – 1 флакон
ТМБ (концентрат × 50)	Раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидин в димексиде (диметилсульфоксиде). Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь желтоватый оттенок.	2,5 мл – 1 флакон
ЦБ	Цитратный буферный раствор, содержащий кислоту лимонную, моногидрат, натрий лимоннокислый 5,5-водный, перекись водорода в конечной концентрации 0,15 %. Прозрачная бесцветная жидкость.	10 мл – 1 флакон
Стоп-реагент	Раствор серной кислоты в концентрации – 5 %. Прозрачная бесцветная жидкость.	5 мл – 1 флакон

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Калибровочные пробы приготовлены на основе сыворотки крови человека, проверенной на отсутствие HBsAg, антител к вирусу гепатита «С» (анти-ВГС) и антител к вирусу иммунодефицита (ВИЧ 1,2). Но исследуемые образцы могут быть потенциально опасны. Поэтому при работе следует использовать одноразовые перчатки, а образцы после проведения анализа и контактировавшие с ними посуду и наконечники обработать дезинфицирующим раствором.

Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (раствор серной кислоты 5 %), являются нетоксичными. Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. При попадании раствора на кожу и слизистые покровы следует промыть их большим количеством проточной воды.

5. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Оборудование:

- иммуноферментный анализатор, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при двух длинах волн: первая длина волны 450 нм, вторая длина волны должна находиться в диапазоне от 620 до 680 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- дозаторы пипеточные со сменными наконечниками: одноканальные, позволяющие отбирать объемы жидкости от 10 до 1000 мкл; многоканальные, позволяющие отбирать объемы жидкости от 50 до 100 мкл;
- устройство для промывки планшетов.

Материалы:

- мерный стакан или цилиндр вместимостью до 600 мл для приготовления раствора ФСР-Т;
- флаконы (пробирки) для приготовления раствора конъюгата и субстратного раствора;
- планшеты для микротитрования или флаконы (пробирки) для разведения исследуемых образцов с концентрацией IgE более 1000 МЕ/мл;
- наконечники полипропиленовые вместимостью 5-200 мкл, 200-1000 мкл;
- ванночки для работы с многоканальной пипеткой;
- крышка для планшета или полиэтиленовый пакет, или липкая пленка для закрывания стрипов при инкубации;
- перчатки одноразовые;
- вода очищенная;
- растворы хлорамина 3 % или перекиси водорода 6 % для обеззараживания;
- контейнер для обеззараживания.

6. ХРАНЕНИЕ И ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для проведения ИФА используют сыворотку (плазму) крови человека. Исследуемые образцы должны быть прозрачными или слегка опалесцирующими. Допускается использование образцов, содержащих антикоагулянты. Срок хранения образцов – не более 48 ч при температуре от 2 до 8 °С. При

необходимости образцы можно хранить в замороженном состоянии не более 1 года, а после размораживания их необходимо тщательно перемешать. Тепловая обработка образцов должна быть исключена.

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ ДЛЯ ИФА

Все компоненты Набора и исследуемые образцы перед проведением анализа должны быть выдержаны при комнатной температуре не менее 30 мин.

Приготовление рабочих растворов проводят в стеклянной посуде.

Раствор ФСР-Т готовят добавлением к концентрату ФСР-Т воды очищенной, раствор конъюгата – добавлением к концентрату конъюгата раствора ФСР-Т, субстратный раствор – добавлением к концентрату ТМБ цитратного буферного раствора (ЦБ).

Растворы готовят в зависимости от количества используемых стрипов иммуносорбента в соответствии с таблицей № 1.

Таблица № 1

Количество стрипов	Раствор ФСР-Т		Раствор конъюгата		Субстратный раствор	
	ФСР-Т (концентрат × 25), мл	Вода очищенная, мл	Конъюгат (концентрат × 50), мкл	Раствор ФСР-Т, мл	ТМБ (концентрат × 5), мл	ЦБ, мл
2	4,0	100	40	2,0	0,4	1,6
3	6,0	150	60	3,0	0,6	2,4
4	8,0	200	80	4,0	0,8	3,2
5	10,0	250	100	5,0	1,0	4,0
6	12,0	300	120	6,0	1,2	4,8
7	14,0	350	140	7,0	1,4	5,6
8	16,0	400	160	8,0	1,6	6,4
9	18,0	450	180	9,0	1,8	7,2
10	20,0	500	200	10,0	2,0	8,0
12	24,0	600	240	12,0	2,4	9,6

Приготовленный раствор ФСР-Т используют в течение 12 часов для промывания планшетов и разведения концентрата конъюгата.

Раствор конъюгата и субстратный раствор готовят непосредственно перед использованием и тщательно перемешивают.

Исследуемые образцы с концентрацией IgE более 1000 МЕ/мл предварительно разводят во флаконах (пробирках) или в лунках планшета для микротитрования калибровочной пробой 0 МЕ/мл (например, в 5 или 10 раз, добавляя к 10 мкл образца 40 или 90 мкл пробы соответственно) и перемешивают пипетированием.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

После вскрытия упаковки с планшетом в рамке устанавливают необходимое количество стрипов (оставшиеся стрипы сохраняют в закрытом полиэтиленовом пакете при температуре от 2 до 8 °С до следующей постановки) и записывают

схему расположения калибровочных проб и исследуемых образцов.

В соответствующие лунки стрипов вносят в дубликатах по 20 мкл каждой калибровочной пробы и исследуемого образца.

В каждую лунку добавляют по 100 мкл раствора конъюгата. Содержимое лунок перемешивают осторожным постукиванием по рамке в горизонтальной плоскости в течение 20-30 с.

Рамку со стрипами помещают в полиэтиленовый пакет или закрывают крышкой или липкой лентой и выдерживают в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 ч.

Время внесения калибровочных проб, исследуемых образцов и раствора конъюгата не должно превышать 15 мин. Время инкубации исчисляют с момента установки рамки со стрипами в термостат.

По окончании инкубации содержимое лунок удаляют в емкость с дезинфицирующим раствором и промывают 4-5 раз раствором ФСП-Т, наполняя лунки до краев и удаляя раствор в ту же емкость.

Во все лунки вносят по 100 мкл субстратного раствора. Выдерживают в течение 15-20 мин при температуре от 18 до 25 $^\circ\text{C}$.

Реакцию останавливают добавлением во все лунки по 50 мкл стоп-реактанта и производят учет результатов. Время между остановкой реакции и учетом результатов не должно превышать 10 мин.

9. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят фотометрически при двух длинах волн (первая – 450 нм, вторая длина волны должна находиться в диапазоне от 620 до 680 нм). Предварительно устанавливают «ноль» прибора по «воздуху».

Определяют средние значения оптической плотности (ОП) для каждой пары калибровочных проб и исследуемых образцов. Анализ считается правильным, если в лунках с КП 0 МЕ/мл отсутствует цветное окрашивание – показатели оптической плотности (ОП) в оптических единицах (о.е.) – не более 0,12 о.е.; показатели других КП соответствуют следующей тенденции: ОП КП 25 МЕ/мл < ОП КП 100 МЕ/мл < ОП КП 250 МЕ/мл < ОП КП 500 МЕ/мл < ОП КП 1000 МЕ/мл < 3,00 о.е.

Калибровочный график строят по средним значениям ОП калибровочных проб в координатах: ось абсцисс – концентрация IgE в МЕ/мл, ось ординат – ОП в оптических единицах.

Для каждой постановки ИФА строят отдельный калибровочный график. Используя калибровочный график, определяют значения концентрации IgE в исследуемых образцах.

В случае получения для исследуемых образцов значений ОП, не укладывающихся в калибровочный график, образцы разводят калибровочной пробой 0 МЕ/мл, повторяют определение и полученный результат умножают на величину разведения.

Средние значения возрастных норм для общего IgE:

новорожденные	– до 3 МЕ/мл;
дети до 1 года	– до 20 МЕ/мл;
1 год - 5 лет	– до 50 МЕ/мл;
5 - 10 лет	– до 60 МЕ/мл;
10 лет и старше, взрослые	– 20 - 100 МЕ/мл.

Приведенные показатели можно использовать только как ориентировочные, так как нормальные уровни общего IgE в разных популяциях и у разных групп населения могут существенно отличаться.

Примечание: многие иммуноферментные анализаторы («Dynatech MR5000», «Multiscan MCC/340») могут автоматически вычислять средние значения оптической плотности калибровочных проб, строить по ним калибровочную кривую и определять значения концентрации IgE в исследуемых образцах методом линейной интерполяции.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

Транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.1248-03. При температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 14 суток. Замораживание не допускается.

11. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности 9 месяцев.

По истечении срока годности Набор применению не подлежит.

Рекламации на качество препарата, с обязательным указанием номера серии и даты изготовления, направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора, 119002, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел. (499) 241-39-22, факс (499) 241-92-38 и в адрес предприятия-производителя - ФГУП «НПО «Микроген», 115088, г. Москва, ул. 1-ая Дубровская, д. 15, тел. (495) 710-37-87; (Адрес производства: 603950, г. Нижний Новгород, ул. Грузинская, д. 44, тел. (831) 434-42-77).

Начальник Управления
регистрации и обеспечения
качества лекарственных средств
ФГУП «НПО «Микроген»


С.А. Коровкин

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью
_____ € _____ листа(ов)

Копия
Национальное управление
регистрации лекарственных
средств