«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

_____ М.Д. Хусаинов

«27» 09 2022 г.

м.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для иммуноферментного определения концентрации общего иммуноглобулина класса Е

в сыворотке крови

(IgE общий – ИФА – БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации общего иммуноглобулина класса Е в сыворотке крови «IgE общий-ИФА-БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для определения концентрации общего иммуноглобулина класса Е ($IgE_{общ}$) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного, 6 калибровочных и 1 контрольного образцов (всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич» – варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител к IgE.

На первой стадии калибровочные образцы с известной концентрацией $IgE_{общ}$ и анализируемые образцы инкубируются в лунках стрипированного планшета с иммобилизованными моноклональными антителами (МКАТ) к IgE. На второй стадии связавшийся в лунках IgE обрабатывают конъюгатом МКАТ к IgE с пероксидазой (конъюгат МКАТ и иммобилизованные в лунках планшета МКАТ специфичны к разным участкам молекулы IgE).

Образовавшиеся иммунные комплексы «иммобилизованные МКАТ – IgE – конъюгат» выявляют ферментативной реакцией с раствором тетраметилбензидина. Степень окрашивания пропорциональна концентрации $IgE_{общ}$ в анализируемом образце. После измерения величины оптической плотности раствора
в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация $IgE_{общ}$ в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности моноклональными антителами к IgE человека, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочные образцы, содержащие известные количества $IgE_{общ}$ – К0, К1, К2, К3, К4 и К5, аттестованные относительно WHO International Standard Immunoglobulin E (IgE), human serum, NIBSC 11/234; концентрации $IgE_{общ}$ в калибровочных образцах указаны на этикетках пробирок; готовые для использования – 6 пробирок (по 0,2 мл);
- контрольный образец на основе инактивированной сыворотки крови человека с известным содержанием $IgE_{общ}$, аттестованный относительно WHO International Standard Immunoglobulin E (IgE), human serum, NIBSC 11/234; готовый для использования – 1 пробирка (0,2 мл);
- конъюгат моноклональных антител к IgE с пероксидазой хрена, готовый для использования – 1 флакон (13 мл);

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– раствор для разведения сывороток (РРС) – 3 флакона (по 12 мл);
– концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
– раствор тетраметилбензидина плюс (раствор ТМБ плюс), готовый для использования – 1 флакон (13 мл);
– стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл);
– плёнка для заклеивания планшета – 2 шт.;
– ванночка для реагента – 2 шт.;
– наконечники для пипетки на 5–200 мкл – 16 шт.

Принадлежности:
– трафарет для построения калибровочного графика – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. В наборе «IgE общий-ИФА-БЕСТ» используются моноклональные антитела, обладающие высокой специфичностью к IgE. Перекрестного связывания с IgG, IgM, IgA или альбумином в физиологических концентрациях не наблюдалось.

3.2. «Хук-эффект» при использовании набора реагентов не зафиксирован. Оптическая плотность образцов сыворотки крови с концентрацией IgEобщ до 8000 МЕ/мл всегда превышала оптическую плотность калибровочного образца с максимальной концентрацией $IgE_{общ}$.

3.3.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения концентрации $IgE_{общ}$ в лунках, содержащих контрольный образец, не превышает 8%.

3.4.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение от расчётной величины концентрации $IgE_{общ}$ при разведении калибровочных образцов, содержащих К5, К4, К3, в 2 раза, и калибровочного образца К2 – в 5 раз. Процент «линейности» составляет 90–110%.

3.5.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации $IgE_{общ}$ расчетному значению в пробе, полученной путём смешивания равных объёмов контрольного образца и калибровочного образца с концентрацией $IgE_{общ}$ К2. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.6.* Чувствительность. Минимально определяемая концентрация $IgE_{общ}$, рассчитанная на основании среднего арифметического значения оптической плотности калибровочной пробы B_0 (с концентрацией $IgE_{общ}$ 0 МЕ/мл) плюс 2σ (σ – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения B_0), не превышает 2,5 МЕ/мл.

3.7. Клиническая проверка. Концентрация $IgE_{общ}$ измеренная в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч, у здоровых лиц юго-восточного региона Западной Сибири в возрасте 20–50 лет находилась в диапазоне 11÷165 МЕ/мл (см. стр. 28–29).

3.8. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации $IgE_{общ}$, соответствующие нормальным для данного региона, у обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998.

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

других инфекций.

4.5. Лабораторная посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

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

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2, деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только при длине волны 450 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре 37±1°С и 400–800 об/мин;
- микроцентрифуга, позволяющая центрифугировать при 1500–2000 об/мин;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объёмы жидкостей от 5 до 350 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- холодильник бытовой;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 48 часов или при температуре минус 20°С (и ниже) не более 3 мес. Тепловая обработка образцов должна быть исключена, поскольку она часто приводит к денатурации IgE. Повторное замораживание и размораживание образцов сыворотки крови не допускается. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 мин при температуре от 18 до 25°С.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при температуре от 18 до 25°С не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Использовать в течение 1 часа после установки. Оставшиеся неиспользованными

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок.

Хранить при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление промывочного раствора

Раствор готовится из концентрата фосфатно-солевого буферного раствора. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°С до полного растворения осадка.

Внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) и добавить соответствующее количество дистиллированной воды.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 сут.

7.4. Подготовка раствора для разведения сывороток (РРС)

РРС готов к использованию.

После вскрытия РРС можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.5. Подготовка калибровочных образцов и контрольного образца

Калибровочные образцы и контрольный образец готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием пробирки встряхнуть или центрифугировать на микроцентрифуге так, чтобы капли растворов со стенок и крышки опустились на дно. Затем содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе или пипетированием, избегая образования пены. Использовать для каждой пробирки отдельный наконечник!

Калибровочные образцы и контрольный образец после вскрытия можно хранить в плотно закрытых пробирках при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.6. Подготовка исследуемых образцов

Стандартная схема анализа не предусматривает предварительного разведения образцов (см. п. 9.4). Исследуемые образцы вносятся непосредственно в лунки стрипов с раствором для разведения сывороток (РРС).

7.7. Подготовка конъюгата.

Конъюгат готов к использованию.

Необходимое количество конъюгата отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА конъюгат утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным конъюгатом).***

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Конъюгат после вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

7.8. Подготовка раствора тетраметилбензидина плюс.

Раствор ТМБ плюс готов к использованию.

Необходимое количество раствора ТМБ плюс отобрать в чистый флакон или ванночку для реагента.

Оставшийся после проведения ИФА раствор ТМБ плюс утилизировать ***(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ плюс).***

Необходимо исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензидина плюс.

В таблице приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

Раствор ТМБ плюс после вскрытия можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7.9. Стоп-реагент готов к использованию.

После вскрытия стоп-реагент можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.10. Внести во все лунки по 200 мкл раствора для разведения сывороток (РРС).

Внести в соответствующие лунки в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, по 15 мкл каждого калибровочного образца. В следующую пару лунок внести по 15 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 15 мкл исследуемых образцов сыворотки крови или их разведений (см п. 9.4). Сразу после внесения образцов содержимое лунок немедленно перемешать 3–4 кратным пипетированием с использованием того же наконечника для пипетки, которым вносили образец.

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех лунок планшета.

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин при встряхивании на термостатируемом шейкере при температуре 37±1°С и 700 об/мин.

7.12. По окончании инкубации снять пленку и удалить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. Содержимое лунок удалить отсасыванием в сосуд с дезинфицирующим раствором и промыть, добавляя во все лунки по 350 мкл промывочного раствора (см п. 7.3). Процесс промывки повторить еще 4 раза. Общее количество отмывок равно 5. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо следить за полным опорожнением лунок после каждого цикла отмывки. Затем удалить остатки жидкости из лунок, постукивая планшетом в перевёрнутом положении по фильтровальной бумаге.

7.13. Внести во все лунки планшета по 100 мкл конъюгата (см п. 7.7).

Для внесения конъюгата использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.14. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин при встряхивании на термостатируемом шейкере при температуре 37±1°С и 700 об/мин.

7.15. По окончании инкубации удалить содержимое лунок и промыть планшет, как это указано в п. 7.12.

7.16. Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина плюс (см п. 7.8) и инкубировать в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре от 18 до 25°С.

Для внесения раствора тетраметилбензидина плюс использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.17. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина плюс, по 100 мкл стоп-реагента; при этом содержимое лунок окрашивается в жёлтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм; допускается измерение только с фильтром 450 нм. Измерение проводить через 2–3 мин после остановки реакции.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Вычислить средние арифметические значения оптической плотности для каждой пары лунок, содержащих калибровочные образцы.

9.2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости среднего арифметического значения оптической плотности (ед. опт. плотн.) от концентрации $IgE_{общ}$ в калибровочных образцах (МЕ/мл).

9.3. Определить концентрацию $IgE_{общ}$ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Вычислить среднее арифметическое значение концентрации для каждой пары лунок, содержащих анализируемые образцы.

9.4. Если концентрация $IgE_{общ}$ в анализируемом образце превышает концентрацию $IgE_{общ}$ в калиб-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ровочном образце К5, то его анализируют повторно после предварительного разведения (т.е. до внесения в лунку) раствором для разведения сывороток в 5 раз (10 мкл исследуемого образца + 40 мкл РРС). В случае разведения анализируемых образцов необходимо полученную концентрацию $IgE_{общ}$ умножить на фактор разведения.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1 Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

10.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности.

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;
- калибровочные образцы и контрольный образец после вскрытия можно хранить в плотно закрытых пробирках при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности;
- конъюгат после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для разведения сывороток, раствор ТМБ плюс и стоп-реагент после вскрытия можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°С в течение всего срока годности набора;
- промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°С не более 5 сут.

10.5. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, рекомендуется также каждый раз определять концентрацию $IgE_{общ}$ в контрольном образце.

10.6. Для перевода результатов измерений концентрации иммуноглобулина Е из МЕ/мл в нг/мл, использовать коэффициент пересчета 2,4 (1 МЕ/мл IgE = 2,4 нг/мл IgE).

10.7. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (раствор ТМБ плюс, ФСБ-Т×25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

10.8. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «IgE общий-ИФА-БЕСТ»,
следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область,
р. п. Кольцово, а/я 121,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тел. (383) 363-20-60, 227-75-43,
тел./факс (383) 363-35-55.
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации $IgE_{общ}$ в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут влиять на ферментативную активность конъюгатов;

– ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;

– избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

– рабочие поверхности столов, оборудования обрабатывайте 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

– никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

– перед отбором ТМБ из флакона необходимо обрабатывать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с ТМБ;

– если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости
в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

– Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

2. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

– соотношение оптических плотностей калибровочных образцов: $ОП_{К0} < ОП_{К1} < ОП_{К2} < ОП_{К3} < ОП_{К4} < ОП_{К5}$;

– $ОП_{К5} \geq 1{,}0$ ед. опт. плотн. (о.е.);

– вычисленное по калибровочному графику значение концентрации $IgE_{общ}$ в контрольном об-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

разце попадает в пределы, указанные на этикетке пробирки.
$ОП_{К0}$, $ОП_{К1}$, $ОП_{К2}$, $ОП_{К3}$, $ОП_{К4}$ и $ОП_{К5}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов К0, К1, К2, К3, К4 и К5 соответственно.

3. Расчет результатов анализа

Для построения калибровочного графика на прилагаемом трафарете против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию $IgE_{общ}$ в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить среднее значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации $IgE_{общ}$ в образце.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

4. Диагностическая значимость

Результаты определения IgE могут быть использованы для прогнозирования развития атопии у детей, а также в диагностике аллергических и некоторых других заболеваний.

Обычно ассоциируемый с аллергией иммуноглобулин Е имеет молекулярную массу около 190000 Да и отличается от других иммуноглобулинов большой цитофильностью. Он способен прикрепляться своим Fc-фрагментом к рецепторам тканевых базофилов (тучных клеток), базофилов крови и эозинофилов. Связывание ди- или поливалентного антигена (аллергена) как минимум двумя соседними молекулами IgE, фиксированными на тучной клетке, вызывает дегрануляцию последней и выделение из гранул гистамина и других медиаторов. Медиаторы с одной стороны привлекают в очаг дегрануляции и мобилизуют эозинофилы и некоторые другие клетки, с другой стороны изменяют проницаемость капилляров и создают условия для поступления в ткани антител и клеток-эффекторов. При интенсивной дегрануляции базофилов, приводящей к чрезмерно большому выделению медиаторов, могут развиться симптомы аллергии по механизму гиперчувствительности немедленного типа. IgE необходим также для иммобилизации эозинофилов на поверхности паразитов (главным образом гельминтов).

Синтез IgE способны вызывать только тимусзависимые антигены, в число которых входят антигены гельминтов, некоторых микроорганизмов, ряд пищевых, лекарственных, бытовых и индустриальных агентов, пыльца многих растений и т.д. Стойкое повышение уровня IgE обычно происходит в условиях длительного поступления в организм относительно небольших количеств антигена, причем сенсибилизация может потом долго сохраняться даже в отсутствие антигена.

В отличие от других иммуноглобулинов относительное содержание IgE в крови незначительно. В норме уровень IgE в амниотической жидкости и в сыворотке крови новорожденных минимален. В течение детства он постепенно увеличивается, достигая максимума около 50 МЕ/мл в возрасте 13–15 лет, и снижается у взрослых и, далее, у пожилых людей в связи с общей десенсибилизацией организма. Повышенные уровни IgE обычно наблюдаются у больных атопическими или аллергическими заболеваниями (бронхиальная астма, бронхоспазм, поллинозы, экзема, крапивница, отек Квинке, экзантема, хроническая диарея и т.д.). По меньшей мере в 15% случаев высокий уровень IgE в крови не коррелирует с наличием выраженных симптомов аллергии. Последнее может иметь место при инфекциях, кандидомикозах, воспалительных заболеваниях кожи, болезнях иммунной системы. Особенно же часто это бывает связано с гельминтозами или, у практически здоровых людей, с полиаллергенной сенсибилизацией, когда включаются адаптивные механизмы, блокирующие развитие реакций гиперчувствительности немедленного типа. (Потенциально у этих людей сохраняется вероятность возникновения аллергических приступов в ответ на контакт с более или менее полным набором аллергенов, к которым был сенсибилизирован организм – контакта с одним из этих аллергенов в таких случаях часто бывает недостаточно).

Снижение концентрации IgE в крови отмечено при некоторых прогрессирующих опухолях и при определенных разновидностях агаммаглобулинемии.

Уровни IgE в организме в значительной степени обусловлены генетическими факторами. Особенно наглядно это проявляется в раннем детстве – в условиях еще ограниченного контакта с аллер-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

генами. Поэтому, дифференциальный диагноз и прогноз развития атопических заболеваний у новорожденных и маленьких детей является одним из основных показаний для определения общего сывороточного IgE.

В целом, иммуноферментный метод определения концентрации IgE в сыворотке крови следует рассматривать в качестве важного вспомогательного средства, позволяющего дифференцировать атопические заболевания и заболевания с аллергическим компонентом среди множества патологий, клинически проявляющихся как астма, частые заболевания дыхательных путей, хронические риниты и дерматиты, хроническая диарея и т.д.

Согласно результатам, опубликованным в литературе, нормальный уровень суммарного IgE в сыворотке крови у детей до 1 года обычно не превышает 3,5–4,0 МЕ/мл. Пороговые для диагноза атопического заболевания значения концентрации IgE в амниотической жидкости и сыворотке пуповинной крови составляли всего лишь 0,8 и 0,5 МЕ/мл, соответственно. В целом, показателем атопического заболевания у детей, по-видимому, следует считать такой уровень IgE, который превышает среднюю геометрическую величину уровня IgE для соответствующего возраста более чем на одно стандартное отклонение.

Для взрослых применимо следующее правило:

- **концентрация IgE ниже или равна 25 МЕ/мл – атопическое заболевание маловероятно;**
- **концентрация IgE в пределах 25–100 МЕ/мл – атопическое заболевание нельзя исключить;**
- **концентрация IgE выше 100 МЕ/мл – атопическое заболевание весьма вероятно.**

Однако, приведенные показатели можно использовать только как ориентировочные и в каждой лаборатории рекомендуется вычислить собственные границы нормальных значений концентрации IgE в сыворотке крови. По данным литературы нормальные уровни IgE в разных популяциях и у разных групп населения могут весьма существенно отличаться (пороговый уровень IgE у мужчин в возрасте около 60 лет может достигать 380 МЕ/мл, а у женщин того же возраста – 175 МЕ/мл).

Например, средний уровень суммарного сывороточного IgE у здоровых людей составлял в 1985 г. в Алма-Ате около 40 МЕ/мл, а в Будапеште – около 135 МЕ/мл. Повышенный уровень IgE может быть выявлен у курильщиков. В то же время при атопии, в частности при моносенсибилизации, уровни IgE могут быть повышены в меньшей степени или даже близки к нормальному, несмотря на явные симптомы заболевания. Последнее очевидно объясняется высоким удельным содержанием аллергенспецифичного IgE в пуле суммарного $IgE_{общ}$ и, в силу этого, меньшей конкуренцией специфичного и неспецифичного IgE за рецепторы базофилов. Чрезвычайно высокие концентрации сывороточного IgE могут отмечаться при паразитарных заболеваниях.

5. КРАТКАЯ СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИФА ДЛЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «IGE ОБЩИЙ – ИФА – БЕСТ»

Использовать только после внимательного ознакомления с инструкцией!

Внести:	по 200 мкл РРС.
Внести и перемешать:	в дублях по 15 мкл калибровочных и контрольного образцов и анализируемых образцов.
Инкубировать:	20 мин, 37°С, 700 об/мин.
Промыть:	промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл конъюгата.
Инкубировать:	20 мин, 37°С, 700 об/мин.
Промыть:	промывочным раствором, 350 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл раствора ТМБ плюс.
Инкубировать:	15 мин, 18–25°С, в темноте.
Внести:	по 100 мкл стоп-реагента.
Измерить:	ОП при 450 нм/референсная длина волны 620–655 нм.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6. ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов	NON STERILE	Не стерильно
LOT	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 363-05-97.

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Количество используемых стрипов	Промывочный раствор		Конъюгат, мл	Раствор ТМБ плюс, мл
	ФСБ-Т×25, мл	Дистиллированная вода, мл		
2	4.0	до 100	2.0	2.0
3	6.0	до 150	3.0	3.0
4	8.0	до 200	4.0	4.0
5	10.0	до 250	5.0	5.0
6	12.0	до 300	6.0	6.0
7	14.0	до 350	7.0	7.0
8	16.0	до 400	8.0	8.0
9	18.0	до 450	9.0	9.0
10	20.0	до 500	10.0	10.0
11	22.0	до 550	11.0	11.0
12	24.0	до 600	12.0	12.0

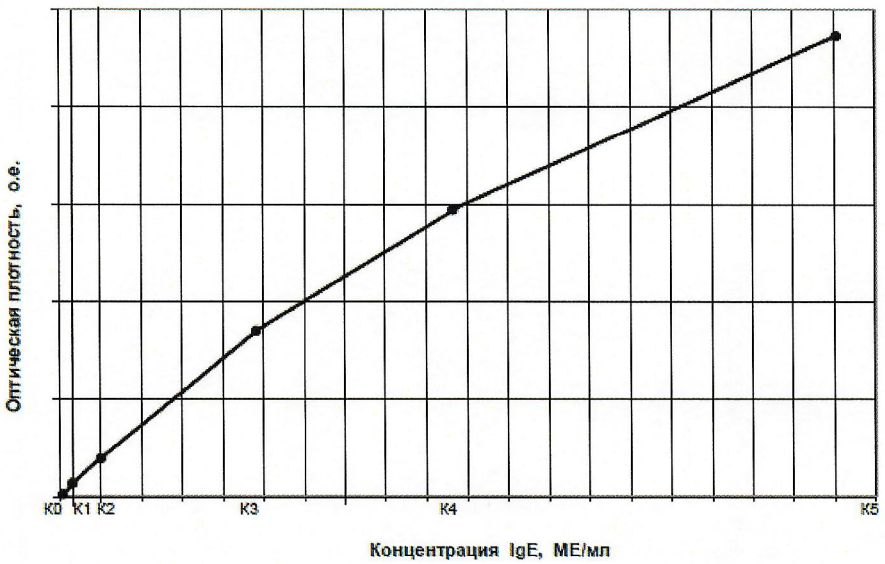


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации $IgE_{общ}$ в калибровочных образцах.

* по ГОСТ Р 51352-2013.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru