



## Набор для определения ИММУНОГЛОБУЛИНА E

**Кат. №** : 125-1801  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DAI (США)

Методика от 06-2003

**Внимание:** основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

### НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор является ИФА для количественного определения концентрации иммуноглобулина E (IgE) в человеческой сыворотке.

### КЛИНИЧЕСКОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Пациенты с аллергическими заболеваниями, такими как аллергическая астма, аллергический дерматит и некоторые другие, показывают взаимосвязь с увеличением уровня общего иммуноглобулина в крови. IgE также известен как антитело, способное к реакциям. Вообще, рост уровня IgE указывает на увеличение непрямои гиперчувствительности к IgE, что ответственно за аллергические реакции. Высокий уровень IgE также проявляется при паразитических инвазиях, таких как анкилостома и заболевание центральной системы. Снижение уровня IgE происходит при аутоиммунных заболеваниях, язвенных колитах, гепатитах, раке и малярии. Уровень IgE в крови пуповины или сыворотке может прогнозировать риск возможных аллергических заболеваний в будущем у ребенка.

Концентрация уровня IgE в пациентов зависит от степени аллергической реакции и от числа разных аллергенов к которым он синтезируется. Неаллергический уровень концентрации IgE у разных индивидов имеет широкие границы и растет в детстве, достигая своего высшего уровня в 15-20 лет, потом остается неизменным до 60 лет, после чего медленно падает.

IgE количественный иммуноферментный анализ является быстрым, чувствительным и надежным анализом общего IgE в сыворотке. Минимальная чувствительность анализа равна около 5,0 Е/мл.

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

IgE ELISA есть твердо-фазовый ферментно-связанный иммуносорбентный анализ. Система анализа использует одно моноклональное анти-IgE-антитело иммобилизовано на лунках для солидной фазы и другое анти- IgE антитело конъюгировано к HRP. Образец добавляется в лунки и инкубируется с нулевым буфером. Если человеческий IgE присутствует в образце, он реагирует с антителом на лунке. После удаление остатков тестового образца, добавляется анти-IgE-HRP конъюгат. Конъюгат связывается с IgE на лунке, в результате чего молекулы IgE будут в сэндвиче между солидно-фазными и ферментно-связанными антителами. После инкубации при комнатной температуре, ячейки промываются для удаления несвязанного конъюгата. Добавляется ТМВ реагент и инкубируется при комнатной температуре 20 минут, в результате развивается голубой цвет. Развитие цвета останавливается добавлением стоп раствора, цвет изменяется на желтый и измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Концентрация IgE прямо пропорциональна интенсивности цвета в образце.

### МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

#### Материалы, поставляемые з наборами:

1. Планшетка с привитыми антителом на 96 лунок.
2. **Набор стандартов:** содержащих 0, 10, 50, 100, 400 и 800 МЕ/мл, жидкие, готовые к использованию.
3. **Нулевой буфер**, 12 мл.
4. **Реагент энзимного конъюгата**, 18 мл.
5. **ТМВ субстрат**, 12 мл.
6. **Стоп раствор**, 12 мл.

#### Необходимые, но не поставляемые материалы:

1. Точные пипетки: 10-40, 40-200 мкл и 1,0 мл.
2. Одноразовые наконечники к пипеткам.
3. Дистиллированная вода.
4. Вихревой смеситель или аналог.
5. Абсорбирующая бумага или бумажное полотенце.
6. Графическая бумага.
7. Микропланшетный считыватель.

### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

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

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЙ

Неоткрытые наборы хранить при 2-8°C до истечения срока годности вместе с микропланшеткой в запечатанной упаковке с десикантом, чтобы минимизировать попадание влаги. Открытые наборы будут сохранять свою активность до окончания срока годности. Не используйте реагенты после этого срока. Можно использовать фотометр с шириной размаха 10 нм или меньше, оптической плотностью 0-2 ОП или больше при длине волны 450 нм.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты нужно привести к комнатной температуре (18-22°C) перед использованием.

### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поставьте необходимое число покрытых лунок в держатель.
2. Добавьте 20 мкл стандарта, контролей и образцов в лунки.
3. Добавьте 100 мкл нулевого буфера в каждую лунку.
4. Тщательно смешайте 10 сек. Очень важно добиться полного смешивания на этом этапе.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-22°C) 30 мин.
6. Опустошите лунки, вытряхиванием содержимого в контейнер для отходов.
7. Промойте и опустошите планшетку 5 раз дистиллированной водой.
8. Резко переверните планшетку на абсорбирующую бумагу для удаления оставшихся капель воды.
9. Добавьте 150 мкл энзимного конъюгата в каждую лунку. Перемешайте 5 сек.
10. Инкубируйте при комнатной температуре 30 мин.
11. Опустошите лунки.
12. Промойте и опустошите планшетку 5 раз дистиллированной водой.
13. Переверните планшетку на абсорбирующую бумагу для удаления оставшихся капель воды.
14. Добавьте 100 мкл ТМВ субстрата в каждую лунку. Перемешайте 5 сек.
15. Инкубируйте при комнатной температуре в темноте 20 мин.
16. Добавьте 100 мкл стоп раствора в каждую лунку.
17. Тщательно перемешайте 30 сек. Важно добиться, чтоб голубой цвет изменился на желтый целиком.
18. Считайте оптическую плотность при 450 нм планшетным считывателем.

#### Важное замечание:

Процедура промывания крайне важна. Недостаточное промывание может привести к неточным результатам.

### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Вычислите среднюю абсорбцию (A450) для каждого набора установленных стандартов, контроля и образцов. Постройте калибровочную кривую, откладывая среднюю абсорбцию, полученную для каждого стандарта на оси Y против его концентрации в МЕ/мл на оси X на графической бумаге. Используя среднюю абсорбцию для каждого образца, определите соответствующую концентрацию IgE в МЕ/мл на калибровочной кривой.

### ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

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

IgE (МЕ/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,008
10	0,189
50	0,851
100	1,287
400	2,300
800	2,966

(Пример калибровочной кривой см. в оригинале инструкции).

### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Уровень общего IgE в норме без аллергии в взрослых составляет менее 150 МЕ/мл в сыворотке. Минимально определяемая концентрация IgE этого набора составляет 5,0 МЕ/мл.

#### Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»

Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Факс: (0342) 775612

E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)

[www.diameb.com](http://www.diameb.com)