



НАБОРА ИФА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ ЧЕЛОВЕКА АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА E

Каталог. № : A1000; A1003; A1004; A1005
Количество : 96; 192; 480; 960
Производитель: Radim (Италия)

Методика 05-2010
Версия 1

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

ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ IN VITRO

1.0 СОСТАВ СИСТЕМЫ

Вся система включает в себя следующие компоненты:

1.1 БАЗОВЫЙ НАБОР (код A1000 - 96 исследований; A1003 - 2 x 96 исследований; код A1004 - 5 x 96 исследований; код A1005 - 10 x 96 тестов). Набор содержит все основные реагенты, необходимые для исследования: микропланшет, конъюгат стрептавидин-пероксидазы, инкубационный буфер, субстрат, стоп-раствор и промывочный раствор.

1.2 КАЛИБРОВОЧНЫЙ НАБОР (код A1100). калибровочный набор содержит калибраторы для специфического IgE, конъюгат анти-IgE-биотина и контрольную сыворотку специфического IgE, которые необходимы для построения калибровочной кривой и проведения соответствующего контроля.

1.3 КОНЪЮГАТЫ АЛЛЕРГЕН-БИОТИНА – единичные и смешанные - 25 исследований.

2.0 НАЗНАЧЕНИЕ

ALLERGEN является диагностической системой in vitro для определения аллерген-специфического IgE в сыворотке или плазме крови человека.

3.0 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Аллерген-специфические IgG циркулируют в крови больных с различными формами аллергии, например, сенная лихорадка, аллергическая экзема или астма.

Исследование аллерген-специфических IgG, в сочетании с другими клиническими данными, является ценным инструментом для правильного определения веществ, ответственных за аллергию.

4.0 ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Метод системы ALLERGEN основывается на иммуноферментной технологии захвата и использует одинаковую твердую фазу - лунки микрополосок, сенсibilизированных человеческими антителами к IgE - для всех анализов с различными аллергенами и калибровочными кривыми.

Калибраторы пипетируются в лунки первых стрипов, а образцы, каждый из которых составляет количество репликатов соответствующих количеству аллергенов для исследования, пипетируются в остальные лунки. Во время первой инкубации антитела к IgE в твердой фазе захватывают IgE образца, оба аллерген-специфические и не аллерген-специфические.

После первичной промывки для удаления любых возможных влияющих веществ других иммуноглобулинов (например, аллерген-специфических IgG), в лунки добавляется конъюгат анти-IgE-биотина, который ранее инкубировался с калибраторами, а также различные конъюгаты аллерген-биотина добавляются в определенные лунки, ранее инкубированные с образцами. В ходе второй инкубации конъюгат анти-IgE-биотина связывается с захваченным на лунке IgG калибраторов, образуя твердофазный сэндвич-комплекс ||анти-IgE: IgE: анти-IgE-биотин.

Биотинилированные аллергены, с другой стороны, связываются соответствующими специфическими IgE, захваченными во время первой инкубации, формируя твердофазный иммунокомплекс ||анти-IgE: IgE: аллерген-биотин.

После промывки во все лунки добавляется конъюгат стрептавидин-пероксидазы. Он реагирует как с конъюгатом анти-IgE-биотина, закрепленным на лунках калибраторов, так и с конъюгатом аллерген-биотина, закрепленным на лунках образцов. Последняя промывка удаляет непрореагировавшие образцы и, наконец, добавление хромоген-субстрата (ТМБ/Н₂О₂) позволяет обнаружить конъюгат стрептавидин-пероксидазы, закрепленный в сформировавшемся иммунокомплексе твердой фазы. Цвет, который развивается, соответствует концентрации IgE калибраторов в лунках инкубированных с калибраторами, и концентрации специфических IgE в лунках инкубированных с образцами. Оптические плотности считываются на планшет-ридере; абсорбции образца прямо пропорциональны концентрации IgE в образце. Результаты получаются путем интерполяции относительно калибровочной кривой и выражаются в виде как единиц, так и типов положительности.

5.0 КОМПОНЕНТЫ СИСТЕМЫ ALLERGEN

5.1 ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

	Реагенты
MT PLATE	Микропланшет, сенсibilизированный анти-IgE: планшет содержит 12 стрипов, каждый по 8 лунок. Каждая лунка сенсibilизирована моноклональными антителами к человеческому IgE. Хранить неиспользованные стрипы при 2...8°C в соответствующем полиэтиленовом пакете с осушителем.
CONJ HRP	Конъюгат HRP-стрептавидин: каждый флакон содержит 13 мл конъюгата стрептавидин-пероксидазы в буфере красного цвета, pH 5,5, с 0,001% ProClin 300. Готов к использованию.
BUF INC	Инкубационный буфер специфического IgE: каждый флакон содержит 8 мл трис-буфера, pH 8,4, с 0,005% ProClin 300. Готов к использованию.
SUBS TMB	Субстрат ВЧ: Каждый флакон содержит 13 мл готовой к использованию стабилизированной смеси 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) и перекиси водорода (H ₂ O ₂). Готов к использованию.
SOLN STOP	Стоп-раствор: каждый флакон содержит 13 мл 0,3 М серной кислоты. Готов к использованию.
BUF WASH 10X	Промывочный раствор конц. 10X: каждый флакон содержит 100 мл промывочного раствора, концентрированного x10 кратно. Готовить рабочий раствор смешивая все содержимое флакона с 900 мл дистиллированной воды высокого качества.

5.2 КОМПОНЕНТЫ НАБОРА КАЛИБРАТОРОВ

	Реагенты
CAL A...G	Калибраторы для специфического IgE: каждый флакон калибратора содержит 1,3 мл человеческого IgE в концентрации 0 - 0,36 - 0,72 - 3,6 - 18 - 50 - 100 КМЕ/л в лошадиной сыворотке и 0,01% ProClin 300. Вышеупомянутые концентрации IgE откалиброваны в соответствии с международным стандартом ВОЗ, 2 IRP 75/502. Хранить при температуре 2 ... 8 ° С. Готовы к использованию.
CONTROL	Контрольная сыворотка специфического IgE: флакон содержит 1,3 мл человеческого IgE в сыворотке лошади и 0,01% ProClin 300. Приемлемый диапазон контрольной сыворотки специфического IgE см. в Сертификате анализа, прилагаемого к набору. Настоящая контрольная сыворотка предназначена для использования в качестве калибровочного контроля только с аппаратом Nexgen Four Allergy. Готова к использованию.
CONJ BIOT	Конъюгат анти-IgE-биотин: флакон содержит 10 мл человеческого конъюгата анти-IgE биотин в трис-буфере, pH 8,1, с 0,04% ProClin 300 и 0,02% Bronidox. Готов к использованию.

5.3 КОНЪЮГАТЫ АЛЛЕРГЕН-БИОТИН

	Реагенты
Аллерген	Конъюгаты аллерген-биотин: каждый флакон содержит 3 мл одного конъюгата аллерген-биотина или смесей, с ProClin 300 (0,04%) и Bronidox (0,02%) в качестве консервантов, и желтым красителем. Готовы к использованию.

6.0 ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ПОСЛЕ ПЕРВОНАЧАЛЬНОГО ОТКРЫТИЯ

- И транспортировка наборов и окончательное хранение всех реагентов системы должны осуществляться при 2 ... 8 ° С, в соответствии с данными на товаросопроводительных документах, этикетками набора и настоящими указаниями по применению (инструкцией пользователя).
- Срок годности указан на внешней этикетке.
- Все реагенты системы, включая аллергены, стабильны после первоначального открытия до даты истечения срока годности указанного на этикетке, соблюдая правильное хранение при 2 ... 8 ° С и в течение 2 недель при комнатной температуре (18 ... 25 ° С).

7.0 НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Внимание: Пользователи должны проверить соблюдение требований анализа всех материалов и инструментов, используемых по отношению к набору. Кроме того, эффективность автоматических и ручных инструментов должна периодически проверяться в соответствии с надлежащей лабораторной практикой (GLP).

- Регулируемые автоматические пипетки со сменными наконечниками на 50 и 100 мкл.
- Полуавтоматические пипетки для неоднократного дозирования на 50 и 100 мкл.
- Высококачественная дистиллированная вода.
- Микропланшетный ридер, который позволяет считывать при 450 нм, 405 нм и 620 нм (в качестве референтного фильтра). Рекомендуется использовать считыватель, который измеряет ОП одновременно при 450, 405 и 620 нм.
- Автоматическое устройство для промывания планшетов (выборочно), способный дозировать 350 мл промывочного раствора для каждой лунки.

8.0 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОДНОСТИ

8.1 ПРАВИЛА БЕЗОПАСНОСТИ

- Все реагенты в настоящем наборе предназначены только для диагностического использования in vitro.
- Рекомендуется, чтобы только опытный лабораторный персонал использовал это исследование, и обращался с ним в соответствии с настоящими инструкциями пользователя и надлежащей лабораторной практикой.
- Операторы должны носить перчатки и защитную одежду при использовании сывороток пациентов или продукции на основе сыворотки.
- Инкубационный буфер содержит БСА (бычий сывороточный альбумин), калибровочный набор содержит сыворотку лошади, полученную от здоровых животных. Однако, поскольку ни один из методов не может дать полной гарантии, что носители инфекций отсутствуют, рекомендуется продукты на основе сыворотки использовать с осторожностью.
- Реагенты набора содержат антимикробные вещества, ВЧ субстрат содержит тетраметилбензидин.
- Избегайте контакта с кожей и глазами. В случае контакта немедленно промыть большим количеством воды.
- Стоп-раствор содержит 0,3 М серной кислоты. Избегать контакта с кожей и глазами. В случае контакта немедленно промыть большим количеством воды.
- Пипетировать соответствующим инструментом.
- Любая жидкость, которая вступила в контакт с потенциально инфекционным материалом, должна быть отправлена в контейнер с дезинфицирующим средством. Утилизация должна производиться в соответствии с действующим законодательством.

8.2 ТЕХНИЧЕСКИЕ МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

А. Правильное использование реагентов и дозирование

- Набор должен использоваться исключительно по назначению.
- Не использовать реагенты после истечения их срока годности.
- Не использовать стрипы или другие реагенты если упаковка повреждена или разлились жидкости.
- Чтобы собрать микропланшет для анализа могут быть использованы стрипы, поступающие от различных микропланшетов, но они должны принадлежать к одной партии и соблюдаться те же условия хранения.
- Перед началом аналитического анализа при необходимости могут быть смешаны следующие реагенты для специфических IgE, даже если они происходят от разных партий: инкубационный буфер, ВЧ субстрат, стоп-раствор, промывочный раствор, HRP-стрептавидин и конъюгаты аллерген-биотина. Однако, должна быть обеспечена прослеживаемость используемых серий, и поэтому число серии должно быть тщательно записано. Кроме того, при смешивании содержимого различных флаконов одного реагента необходимо избегать загрязнения, а все остатки, демонстрирующие любые примеси, должны быть уничтожены.
- ВЧ субстрат бесцветный или желтовато-синий.
- Если происходит случайное химическое загрязнение, раствор превращается в постоянно синий и, следовательно, должен быть уничтожен.
- С другой стороны, случайное попадание ВЧ субстрата под прямые солнечные лучи может временно окислять раствор, который становится синим. Однако, если воздействие света не было слишком длинным, цвет исчезает после ночи хранения при комнатной температуре в темноте, и субстрат может быть использован повторно.
- Использовать только одноразовые наконечники.
- Убедится, что между лунками перекрестное заражение отсутствует. Хранить пипетки и материалы, используемые для конъюгата, полностью изолировано от ВЧ субстрата.

- Перед пипетированием конъюгата или ВЧ субстрата взять аликвот для необходимого количества лунок, чтобы избежать повторной вставки пипеток в бутылки реагента. Не заливать неиспользованные реагенты обратно в оригинальные бутылки.

В. Соблюдение процедуры анализа и технические характеристики

- Полученные значения должны всегда сравниваться со значениями в Сертификате контроля качества.
- Не записывать концентрации специфического IgE за пределами диапазона, указанного на калибровочной кривой.
- Не использовать набор на автоматических анализаторах, отличных от указанных в настоящей инструкции.
- Протокол анализа должен быть строго соблюден. Проверить количество инкубаций и температуры, а также процедуру промывки; это важно!
- В каждом исследовании включать положительный и отрицательный контроль для мониторинга стабильности реагентов и характеристик анализа.

9.0 СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Обе сыворотка и плазма могут быть использованы в анализе. ЭДТА и цитрат натрия могут использоваться в качестве антикоагулянтов.
- Образцы пациентов должны быть получены путем отбора образца с использованием соответствующих пробирок или стерильного шприца. Должны быть соблюдены обычные меры предосторожности для отбора образцов. Если используется шприц, кровь должна быть сразу же перенесена в соответствующие пробирки (с плоским красным верхом или разделителем сыворотки).
- Образцы сыворотки и плазмы можно хранить 2 дня при $2 \dots 8^\circ \text{C}$.
- При длительном хранении заморозить образцы при температуре -20°C .
- Избегать повторного замораживания и размораживания.

10.0 ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Ручная процедура выполняется как описано в пункте 10.2. Такая же процедура уже была установлена на аппаратах Adaltis и Radim. Для более подробной информации о позиционировании реагентов и использовании аппарата просьба обращаться к соответствующей инструкции по эксплуатации.

10.1 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

- Позволить реагентам и микропланшету достичь комнатной температуры перед использованием.
- Разместить неиспользуемые стрипы и осушитель в прозрачном пакете, должным образом запечатать и хранить при $2 \dots 8^\circ \text{C}$.
- Подготовить промывочный раствор.
- Подготовить схему анализа, откладывая лунки для калибраторов, а остальные для образцов.

Для каждого образца учесть количество лунок эквивалентных числу аллергенов, которые должны быть исследованы.

Внимание: важно правильно определить положение образцов при подготовке схемы анализа.

10.2 ПРОЦЕДУРА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Раскапать во все лунки по 50 мкл инкубационного буфера.
- Раскапать в соответствующие лунки по 50 мкл каждого калибратора или образца.
- Осторожно встряхнуть планшет, стараясь не расплескать содержимое лунок, и инкубировать в течение 60 ± 5 мин при температуре $37 \pm 1^\circ \text{C}$ без накрывания микропланшета.
- Промыть 3 раза, как описано в разделе 10.3, Procedурные замечания – процедура промывки.
- Добавить в лунки калибраторов по 100 мкл анти-IgE-биотина и по 100 мкл каждого конъюгата аллерген-биотина в соответствующие лунки.
- Инкубировать при температуре $37 \pm 1^\circ \text{C}$ в течение 30 ± 5 минут.
- Промыть 3 раза, как описано в разделе 10.3, Procedурные замечания – процедура промывки.
- Добавить во все лунки по 100 мкл конъюгата HRP-стрептавидина, и инкубировать в течение 30 ± 5 минут при температуре $37 \pm 1^\circ \text{C}$.
- Промыть 3 раза, как описано в разделе 10.3, Procedурные замечания – процедура промывки.
- Добавить во все лунки по 100 мкл ВЧ субстрата и инкубировать в течение 15 ± 1 мин при комнатной температуре (см. также раздел 10.3, Procedурные замечания – процедура промывки, Дозирование раствора ВЧ субстрата).
- Добавить по 100 мкл стоп-раствора в той же последовательности и с той же частотой, применяемой для внесения ВЧ субстрата, и считать при 450 и 405 нм и референтным фильтром на 620 нм.

10.3 ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Избегайте воздействия прямых солнечных лучей и источников тепла во время инкубации.
- Важно вносить все образцы и контроли в лунки с той же частотой, а общее время дозирования не должно превышать 15 мин. Поэтому, следует убедиться, что все образцы готовы к внесению.
- Температура инкубации для всех иммунологических реакций должна оставаться постоянной на уровне $37^\circ \text{C} \pm 1^\circ \text{C}$.

- **ПРОЦЕДУРА ПРОМЫВКИ**

Для процедуры промывки рекомендуется использовать автоматический планшет-вошер, настроенный на 3 цикла промывки для каждого стрипа и объемом 350 мкл промывочного раствора в каждую лунку за цикл.

В частности, следует программировать вошер на следующие параметры:

- Аспирация инкубационной смеси с первого стрипа, а затем сразу же после этого подача 350 мкл промывочного раствора. Перейти к второму стрипу и продолжить тем же образом до завершения промывания всего планшета.
- Повторить этот цикл еще дважды, соблюдая все вышеуказанные шаги и, наконец, после третьего внесения аспирировать промывочный раствор.

После промывки, зажимая планшет сильно по центру, чтобы придержать стрипы на месте, перевернуть и постучать сильно планшетом о фильтровальную бумагу, чтобы удалить любой остаток жидкости. Эта операция необязательна если вошер обеспечивает безупречную аспирацию.

Если автоматический вошер отсутствует, процедура промывки может осуществляться вручную с помощью простой промывочной бутылки с промывочным раствором:

- Зажимая планшет сильно по центру, чтобы придержать стрипы на месте, быстро его перевернуть для осушивания, таким образом опорожняя содержимое лунок в контейнер для сбора жидкостей.
- Внести в лунки промывочный раствор, содержащийся в промывочной бутылке и опустошить, как описано выше.
- Повторить эту процедуру еще два раза.
- Ударить жестко перевернутым планшетом о фильтровальную бумагу, чтобы удалить любые остатки жидкости из лунок, как предусмотрено для вошера.

- **ВНЕСЕНИЕ ВЧ РАСТВОРА СУБСТРАТА**

Для того, чтобы получить точные и достоверные результаты необходимо внести ВЧ субстрат сразу после промывки.

Желательно контролировать частоту с которой ВЧ субстрат и стоп-раствор добавляют до тех пор, пока метод не будет отработан (например, если ВЧ субстрат дозируется отдельно в лунки каждые 3 секунды, стоп-раствор должен дозироваться в том же порядке и с той же частотой).

Использование дозаторов особенно уместно.

Избегать загрязнения растворов.

Инкубация в темноте не является необходимой. Однако, следует избегать прямого воздействия солнечных лучей.

11.0 РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

11.1 ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ОП

Оптические плотности калибраторов F и G около 1,5 и 2,0, за пределами диапазона линейности некоторых микропланшетный ридеров. Поэтому желательно, считать ОП на 3 длинах волн: 450 нм (пик длины волны абсорбции), 405 нм (длина волны, на которой расположен уклон пика абсорбции) и 620 нм (референтный фильтр) для вычитания любых помех из-за полиэтилена.

Если микропланшетные ридеры неспособны считать 3 длины волны одновременно, рекомендуется поступить следующим образом:

- считать микропланшет при 450 нм и 620 нм.
- считать микропланшет снова при 405 нм и 620 нм.
- определить лунки в которых ОПи при 450 нм выше 2,0
- **выбрать соответствующие ОПи при 405 нм и умножить эти значения при 405 нм на коэффициент преобразования 3,0 (где ОП 450/ОП 405 = 3,0), а именно: ОП 450 нм = ОП 405 нм * 3,0**

ВНИМАНИЕ: коэффициент преобразования 3,0 только рекомендуемый. Для большей точности пользователи должны вычислить коэффициент преобразования на своем ридере.

Считывание только при 450 нм (с референтным фильтром на 620 нм) является достаточным, в то время как в ручном методе калибровочная кривая до 18 КМЕ/л используется вместо полной кривой достигающей 100 КМЕ/л.

Аппараты Adaltis и Radim уже запрограммированы для считывания при 3 длинах волн с соответствующим коэффициентом.

11.2 ОБРАБОТКА ДАННЫХ - РУЧНОЙ МЕТОД

Рассчитать, как описано выше, среднее оптической плотности калибраторов и образцов при 450 нм. Вывести калибровочную кривую, отмечая среднее ОП, соответствующее определенной концентрации IgE (использовать линейный или логарифмический масштаб). Определить концентрацию специфического IgE образца путем интерполяции на калибровочной кривой ОП образца (при 450 нм).

11.3 ОБРАБОТКА ДАННЫХ - АВТОМАТИЧЕСКИЙ МЕТОД

В случае если используется автоматический метод, пожалуйста, обратитесь к процедуре применения используемого аппарата.

11.4 ДОСТОВЕРНОСТЬ АНАЛИЗА

Следующие требования должны быть выполнены для достоверности анализа:

- ОПи калибраторов A и F должны находиться в пределах допустимых интервалов, которые указаны в Сертификате анализа на каждую серию поставки;
- Соотношение между расчетной концентрацией и номинальной концентрацией для каждого отдельного калибратора должно находиться в пределах приемлемости в Сертификате анализа на каждую партию набора калибраторов.
- Результаты, полученные для сыворотки контроля качества, должны находиться в пределах приемлемости: просьба см. раздел 11.5 - Контроль качества. Что касается Nexgen Four Allergy, концентрация специфического IgE контрольной сыворотки, используемой для проверки калибровки, должна находиться в пределах установленного предела приемлемости.

11.5 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Результаты контроля качества для каждой серии набора указаны в соответствующем сертификате.

Для внутреннего контроля качества целесообразно использовать контрольные сыворотки в известной концентрации, которые позволяют анализировать рабочие характеристики, подлежащие мониторингу (см. раздел 8.2 - Технические меры предосторожности).

В частности, как внутренний контроль качества надлежащая лабораторная практика рекомендует, чтобы в каждой процедуре анализа использовалась одна или более сывороток (или смеси сывороток) как если бы они были неизвестными образцами при известной концентрации для некоторых специфических IgE. Полученные результаты должны находиться в пределах установленного диапазона приемлемости. Если результаты не попадают в этот диапазон следует повторить анализ, гарантируя, что используются новые аликвоты контрольных сывороток. Если результаты все еще не попадают в этот диапазон, и даже после проверки аппаратов и соблюдения протокола исследования и проведения процедур, обратитесь к поставщику за помощью.

Не записывать результаты образцов если контрольные значения не входят в пределы приемлемости и / или критерии достоверности не были выполнены.

- Как внутренний контроль качества доступны следующие контрольные сыворотки Радим, содержащие специфические IgE в известных концентрациях:

Код A9251 Птрицательный контроль.

Код A9249 Положительный контроль - Ингалянты.

Код A9250 Положительный контроль – Продукты питания.

11.6 ПРЕДСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Набор калибраторов откалиброван по всем IgE согласно Международному стандарту ВОЗ 2-го Международного эталонного препарата человеческого иммуноглобулина E 75/502 и, соответственно, их концентрации выражены в КМЕ/л.

Система ALLERGEN количественно определяет аллерген-специфические IgE на основе вышеупомянутых калибраторов и, следовательно, концентрации выражены в КЕ/л.

Образцы с концентрациями ниже 0,36 КЕ/л должны быть интерпретированы как неимеющие или необнаруживаемые аллерген-специфические IgE, тогда как значения выше 0,36 КЕ/л можно классифицировать следующим образом:

КЕ/л	Класс АЛЛЕРГЕН-специфический IgE
< 0,36	0 отсутствует или не обнаружен
0,36 – 0,71	1 низкий
0,72 – 3,59	2 средний
3,6 – 17,99	3 высокий
18,00 – 49,99	4 очень высокий
50,00 – 99,9	5 очень высокий
> 100	6 очень высокий

Поскольку не существует международных стандартов, как для единиц специфических IgE, так и референтных аллергенов, концентрации IgE, полученные различными методами, могут быть весьма различными. Таким образом, рекомендуется быть внимательным при сравнении или корреляции различных методов.

Константа сродства специфического IgE может отличаться от аллергена к аллергену, как следствие необходимо знать, что одинаковые результаты для различных аллергенов не обязательно приводят к аналогичной клинической ситуации.

12.0 ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

12.1 ИЗВЕСТНЫЕ ВЛИЯНИЯ

- Гемолизированные и липемические образцы, а также те, которые содержат высокий уровень билирубина, могут дать недостоверные результаты.
- Использование гепарина в качестве антикоагулянта может привести к неприемлемым значениям (рекомендации по подходящим антикоагулянтам см. также в разделе 9.0 Сбор и хранение образцов).
- У пациентов, которым были введены мышинные моноклональные антитела и для диагностики, и для терапии, могут развиваться человеческие анти-мышинные антитела (НАМА). НАМА могут производить в иммунологических анализах, использующих мышинные моноклональные антитела, как ложно высокие, так и ложно низкие значения. По этой причине, целесообразно не проводить исследование образцов тест-системой ALLERGEN, содержащих НАМА.

12.2 ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПО ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Лабораторные исследования аллерген-специфических IgE продемонстрировали свою полезность в детекции аллергенов, отвечающих за определенную повышенную чувствительность и, соответственно, за клиническую оценку аллергических заболеваний. Однако, ни один из результатов исследований специфического IgE не гарантирует полного отсутствия или наличия аллергической болезни. Для правильной диагностики аллергической гиперчувствительности результаты, полученные от дозы специфического IgE к определенному аллергену, всегда должны быть связаны с клиническим обследованием, отдельно взятой историей пациента и, при необходимости, с другими лабораторными исследованиями.

Значения концентрации специфического IgE, измеряемые в образце наборами от разных производителей, могут отличаться из-за различий в методах анализа и специфичности реагентов, в частности, в связи с содержащимся аллергеном. Таким образом, результаты с точки зрения концентраций специфического IgE, полученные от различных анализов не могут быть взаимозаменяемыми (1).

- При пищевых аллергиях IgE также может быть незаметным, несмотря на явный и позитивный случай из истории болезни. IgE могут быть направлены против других аллергенов, отличающихся от исходных из-за изменений в производственных процессах, приготовления пищи или пищеварении. Кроме того, было доказано, что аллергия на ту же пищу также может быть вызвана посредством механизма, не связанного с IgE (2).
- Система ALLERGEN также обеспечивает возможность исследования наличия специфических IgE во многих гаптенах (молекулах с низким молекулярным весом) как медикаменты. Однако, должно быть принято во внимание, что только в немногих из них (например, пенициллине) был проявлен IgE-опосредованный механизм. Отрицательный результат на лекарственные средства, полученные системой ALLERGEN, не исключает того, что пациент имел или имеет отрицательную реакцию на препарат. Даже если реакция гиперчувствительности к препарату IgE-опосредованная, система ALLERGEN может привести к отрицательному результату. Это может произойти, когда образец был собран слишком поздно после введения препарата, так как специфические IgE сокращаются с течением времени и их невозможно обнаружить, или когда образец был собран сразу после аллергической реакции. В самом деле, для определения специфических IgE необходимо определенное время с момента введения препаратов (4); в этом случае рекомендуется исследовать новый образец через 2 недели.
- В целом, в сыворотке крови больных аллергией на яд насекомых изменения в уровнях специфического IgE более или менее выражены и обнаруживаемы. Однако наличие клинических симптомов или возможность будущей гиперчувствительности не должна быть исключена. Что касается яда насекомых, система ALLERGEN может произвести нулевой (0) результат, что свидетельствует об отсутствии или неопределяемом уровне специфических IgE. Однако, этот результат не гарантирует отсутствия текущей или будущей гиперчувствительности к укусу насекомого.
- Настоятельно рекомендуется учитывать возможность перекрестной реакции внутри группы аллергенов (5).

13.0 ОСОБЕННОСТИ АНАЛИЗА

13.1 ТОЧНОСТЬ

Типичные КВ (коэффициенты вариации) были рассчитаны в соответствии с протоколами, указанными NCCLS I/LA том 20-A, 15 № 24, 1997 ("Методы оценки и аналитические характеристики иммунологических исследований антител определенных специфичностей к человеческому иммуноглобулину Е (IgE); Утвержденное руководство"). Обе таблицы ниже обобщают результаты, полученные для некоторых из наиболее распространенных аллергенов:

ALLERGEN	D1	E1	E5	G2	T3	T7	W1	W6
Процедуры	20	20	20	20	20	20	20	20
Реплик./процедуры	4	4	4	4	4	4	4	4
Всего репликатов	80	80	80	80	80	80	80	80
% КВ в анализе	4,74	3,88	2,84	2,79	7,55	6,2	4,18	6,19
% КВ между анализами	6	8,2	8,3	7,7	8,4	9,5	9,5	5,9
% общего КВ	7,64	9,06	8,79	8,16	11,3	11,34	10,37	8,58
Среднее (КЕ/л)	8,03	33,15	26,14	17,18	62,04	10,51	32,01	3,85

13.2 ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Предел обнаружения составляет 0,36 КЕ/л.

13.3 СПЕЦИФИЧНОСТЬ

- Система ALLERGEN является исследованием последовательного захвата и не зависит от влияния других общих и аллерген-специфических иммуноглобулинов (классов IgG, IgM, IgA).
- Общие IgE в концентрации до 1000 КМЕ/л не влияют значительно на анализ.

13.4 ТОЧНОСТЬ

- Корреляции с другими методами:
 - корреляции между системой ALLERGEN и установленным методом (системы Pharmacia CAPTM) дали общее совпадение 92,6% (общее число положительных образцов: 343, общее число отрицательных образцов: 290) (7).
- Разведение и тест на восстановление:
 - тест на разбавление проведен на следующих аллергенах: W6, D1, G2, T7, E1, W1, E6, M3, W4 дал процент КВ между разбавление в диапазоне от 4,3% - 18,6%.

14.0 АВТОМАТИЗАЦИЯ

Настоящий анализ на определение специфического IgE может быть полностью автоматизирован с помощью микропланшетных анализаторов Adaltis и Radim (оснащенными специальным программным обеспечением по аллергии).

По правильному использованию и дополнительной информации просьба см. руководство по эксплуатации каждого аппарата.

15.0 РЕКОМЕНДАЦИИ ПО УСТРАНЕНИЮ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

Соблюдение процедуры, правильное использование реагентов и должное внимание во избежание загрязнения между образцами и реагентами является лучшей гарантией от возможных ошибок.

ОШИБКА	ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ / РЕКОМЕНДАЦИИ
Отсутствие колориметрической реакции после добавления субстрата	- не внесен конъюгат - загрязнение конъюгата - ошибки при выполнении анализа (например, случайное дозирование реагентов в неправильном порядке или от ошибочных флаконов и т.д.)
Реакция слишком слабая (ОП слишком низкие)	- неправильный конъюгат (напр., не из оригинального набора) - время инкубации слишком короткое, температура инкубации слишком низкая
Реакция слишком интенсивная (ОП слишком низкие)	- неправильный конъюгат (например, не из оригинального набора) - время инкубации слишком длинное, температура инкубации слишком высокая - низкое качество воды, используемой для промывочного раствора (низкая степень деионизации) - недостаточная промывка (конъюгат не полностью удален)
Значения необъяснимо завышены	- загрязнение пипеток, наконечников или контейнеров - недостаточная промывка (конъюгат не полностью удален)
Высокий % KB в анализе	- реагенты и/или стрипы не доведены до комнатной температуры перед использованием - планшет-вошер промывает неправильно (предложение: прочистить головку промывателя)
Высокий % KB между анализами	- условия инкубации нестабильны (время или температура) - контроли и образцы не внесены в то же время (с той же периодичностью); проверить последовательность дозирования - вариабельность связана с оператором

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
Тел.: (0342) 775122
Тел/факс: (0342) 775612
E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua