

ИНСТРУКЦИЯ

Тест-система для количественного определения концентраций Общего IgE в сыворотке или плазме человека

Твердофазный иммуноферментный анализа
Формат 96 определений

для диагностики *in vitro*

Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2007/00940 от 05.05.2015 г.

DR. FOOKE
LABORATORIEN GMBH

Тел.: +7 (495) 799-1165
E-mail: info@fooke.ru
www.fooke.ru

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала полной версии инструкции по применению. Фирма изготовитель может, вкладывать в набор многоязычный вариант инструкции.

ВВЕДЕНИЕ

Аллергические реакции немедленного типа (аллергии I типа) опосредованы аллерген-специфическим иммуноглобулином класса E (IgE). Нормальная концентрация IgE в сыворотке зависит от возраста, достигая максимального значения в возрасте 6-15 лет. Во многих случаях появление аллерген-специфического IgE сопровождается повышением титра общего IgE в крови пациентов. В этих случаях уровень IgE в крови может увеличиться в 1000 раз. Как правило, концентрации IgE определяется в международных единицах на миллилитр (МЕ/мл), где 1 МЕ соответствует 2,4 нг (нанограмм) IgE. Наиболее высокие концентрации обнаруживаются у пациентов с atopическим дерматитом, у которых они часто достигают уровня 50000 МЕ/мл. Кроме того, повышенный уровень общего IgE встречается при паразитозах. Отклоняющиеся от нормы титры были также описаны при некоторых аутоиммунных заболеваниях.

НАЗНАЧЕНИЕ

Общий IgE-HRP EIA предназначен для количественного определения IgE в сыворотке или плазме человека. Результаты учитываются при диагностике аллергии I типа. Кроме того, определение общего IgE рекомендуется пациентам с подозрением на паразитарные заболевания.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Общий IgE-HRP EIA, предназначенный для количественного определения IgE, методом иммуно-ферментного анализа «сэндвич-вариант». На этапе первой инкубации общий IgE из образца пациента связывается с анти-IgE человека сорбированными в ячейках микропланшета. С помощью процедуры промывки избыток компонентов сыворотки/плазмы удаляется из ячейки, тогда как IgE-антитела связавшиеся с иммобилизованными антителами, остаются в ячейках. Обнаружение связанных IgE осуществляется посредством анти-IgE антител, меченных пероксидазой, образуя анти-IgE/IgE/конъюгат комплекс. Ячейки снова промываются, и добавляется раствор субстрата 3,3', 5,5'-тетра-метил-бензидин (ТМБ). Далее после инкубации в ячейках развивается голубая окраска. Ферментная реакция останавливается добавлением фосфорной кислоты (H₃PO₄), голубой цвет меняется на желтый. Оптическая плотность (ОП) окрашившегося продукта измеряется спектрофотометрически на длине волны 450 нм (эталонная длина волны 620 нм). Концентрация специфических IgE в образце пациента пропорциональна ОП. Калиброванные стандарты с известным содержанием IgE-специфических антител (калиброванные по Международному Стандарту ВОЗ 75/502) анализируют одновременно с образцами пациента для получения калибровочной кривой. Неизвестные концентрации IgE в исследуемых образцах рассчитывается по данным этой кривой.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

Стрипы с иммобилизованными анти-IgE	MICROWELL	12 стрипов x 8 ячеек
Конъюгат анти-IgE HRP	CONJ HRP E	1 x 12 мл
Промывочный буфер, концентрат 50x	WASHBUF C 50x	1 x 30 мл
Раствор субстрата ТМБ	SUB TMB	1 x 12 мл
Стоп-раствор (25% H ₃ PO ₄)	STOP H₂SO₄	1 x 12 мл
Буфер для разведения	DILBUF A	1 x 12 мл
Стандарт 1 (калибраторы) IgE (5 МЕ/мл)	CAL 1	1 x 0.5 мл
Стандарт 2 (калибраторы) IgE (20 МЕ/мл)	CAL 2	1 x 0.5 мл
Стандарт 3 (калибраторы) IgE (50 МЕ/мл)	CAL 3	1 x 0.5 мл
Стандарт 4 (калибраторы) IgE (100 МЕ/мл)	CAL 4	1 x 0.5 мл
Стандарт 5 (калибраторы) IgE (200 МЕ/мл)	CAL 5	1 x 0.5 мл
Стандарт 6 (калибраторы) IgE (1000 МЕ/мл)	CAL 6	1 x 0.5 мл
Контрольная сыворотка IgE (низкий уровень)	CONTROL L	1 x 0.5 мл
Контрольная сыворотка IgE (высокий уровень)	CONTROL H	1 x 0.5 мл

НЕОБХОДИМОЕ ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ НЕ ВХОДЯЩЕЕ В СОСТАВ НАБОРА

Пипетки на 10-100 мкл, 200-1000 мкл, многоканальная пипетка, наконечники, пробирки для разбавления образцов, мерный цилиндр, микропланшетный фотометр, инкубатор, плёнка для закрытия ячеек. Дополнительно: микропланшетный вошер (промывочное устройство), дистиллированная вода.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для данного анализа можно использовать сыворотку или плазму пациента. Для сохранения целостности образца никакие добавки или консерванты не требуются. Образцы, хранящиеся при 2-8°C, должны быть проанализированы в течение 48 часов. Если анализ не может быть выполнен в течение 48 часов или если образцы должны быть куда-либо отправлены, то образцы следует заморозить. Следует избегать повторного замораживания и размораживания образцов. Перед проведением анализа замороженные образцы следует разморозить при комнатной температуре (комнатная температура, 20-25°C) и тщательно перемешать осторожным переворачиванием пробирки. Образцы должны быть разведены 1:6. Мы рекомендуем, разбавлять образцы непосредственно в лунках с анти-IgE (сначала пипеткой вводится 100 мкл буферного раствора, а затем 20 мкл образца). Использование гемолитических или липемических образцов не рекомендуется.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Все реагенты перед использованием довести до комнатной температуры. Не востребованные микротитрационные стрипы герметично упаковать в имеющийся пакет из фольги с осушителем.

Буфер для разведения: готов к использованию
Ферментный конъюгат: готов к использованию
Раствор субстрата: готов к использованию
Стоп-раствор: готов к использованию
Стандарты и контроли: готовы к использованию

Промывочный буфер, концентрат:

Концентрированный промывочный буфер нужно развести дистиллированной водой (водой высокой степени очистки) в соотношении 1:50 (Пример: для 2 стрипов потребуется 40 мл промывочного буфера. Следовательно 800 мкл концентрированного промывочного буфера нужно развести дистиллированной водой до получения конечного объема 40 мл).

Полученный таким образом промывочный буфер можно использовать в течение одной недели при комнатной температуре.

ПРОЦЕДУРА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

1. Составьте схему анализа с использованием стандартов, образцов и контролей в дублях. Настоятельно рекомендуется анализировать стандарты, контроли и исследуемые образцы пациентов в дублях. Чтобы минимизировать время при раскапывании, все необходимые образцы должны быть готовы до начала теста. Рекомендуется завершить раскапывание одного планшета в течение 10 мин.
2. Установите необходимое количество стрипов в рамку. Оставшиеся неиспользованные стрипы, тщательно герметично упакуйте в имеющийся пакет из фольги с осушителем.
3. Внесите 100 мкл буферного раствора в каждую лунку и добавьте 20 мкл соответствующих стандартов, контролей и образцов пациента в соответствующие им лунки.
4. Накройте планшет и инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре.
5. Промойте планшет вручную или используйте для этой цели промывочное устройство трижды, каждый раз используя 300 мкл промывочного раствора на лунку. После завершения третьего цикла удалите остатки жидкости, промокнув микропланшет бумажным полотенцем.
6. Добавьте 100 мкл конъюгата анти-IgE-HRP в каждую лунку. Накройте планшет и инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре.
7. Повторите процедуру промывки, как описано в пункте 5.
8. Добавьте 100 мкл ТМБ субстрата в каждую лунку, накройте планшет и инкубируйте в течение 15 минут при комнатной температуре в темноте.
9. В той же последовательности что и раствор субстрата, добавьте во все лунки по 50 мкл стоп-раствора. Хорошо перемешайте. Рекомендуется смешивать раствор в лунках, осторожно постукивая по рамке.

Через 5 минут определить оптическую плотность образцов на длине волны 450 нм (эталонная длина волны 620 нм), используя микропланшетный ридер, и рассчитайте результаты в контролях и анализируемых образцах, как описано ниже.

СХЕМА АНАЛИЗА Total IgE-HRP EIA



ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Значения средней оптической плотности (ОП) [Δ 450 нм – 620 нм] рассчитывают по калибровочным стандартам, контролей и образцов, взятых у пациентов. На полулогарифмической бумаге постройте график по средним значениям оптической плотности, полученным для четырех калибровочных стандартов (абсцисса: \log IgE МЕ/мл; ордината: линейная оптическая плотность Δ 450 нм - 620 нм). Концентрацию IgE в образце пациента определяют по стандартной кривой. Среднюю оптическую плотность указывают на оси ординат, а результат в МЕ/мл можно прочесть на оси абсцисс. Калибровочная кривая и контроли должны быть в рамках диапазона, указанного в Сертификате контроля качества, поставляемого вместе с набором. В противном случае, следует проверить условия проведения анализа и, вероятно, повторить анализ.

ПРИМЕР КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Концентрация калибровочного стандарта (МЕ/мл)	ОП 450 нм Среднее (n=22)	Диапазон приемлемых значений ОП 450 нм
5	0.074	0.056 - 0.130
20	0.217	0.163 - 0.271
50	0.438	0.329 - 0.548
100	0.753	0.565 - 0.941
200	1.076	0.907 - 1.345
1000	2.076	1.557 - 2.595

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Рекомендуется, чтобы в каждой лаборатории были определены ожидаемые значения для обследуемых групп на основании статистически достаточного количества анализов, проведенных за определенный период времени. Значения, приведенные ниже, могут быть использованы в качестве ориентира для определения собственных результатов.

Возраст (лет)	Кол-во пациентов	Среднее значение (МЕ/мл)	Среднее значение + 1 ДО (МЕ/мл)
1-2	29	20	64
3-5	31	35	119
6-15	45	51	150
16-20	59	38	123
21-30	114	27	100
31-40	38	34	113
> 40	109	34	114
Итого	425	32	108

ДО - Допустимые отклонения

ИЗМЕРЯЕМЫЙ ДИАПАЗОН

Концентрация IgE может быть определена в диапазоне от 5 МЕ/мл до 1000 МЕ/мл. Образцы с концентрацией выше, чем 1000 МЕ/мл следует повторно проанализировать в соответствующем разведении, чтобы определить точную концентрацию IgE.

ТОЧНОСТЬ

Вариативность и воспроизводимость

1. Вариативность результатов одного анализа (1 тест в 4-кратном определении)

Образец	Значение МЕ/мл	КВ (%)
1 (n=4)	25.8	4.5
2 (n=4)	141.1	4.4
3 (n=4)	397.6	5.3

2. Вариативность результатов разных анализов (3 теста / 4 определения каждый)

Образец	Значение МЕ/мл	КВ (%)
1 (n=12)	27.7	6.4
2 (n=12)	148.5	6.1
3 (n=12)	415.2	9.9

ЛИНЕЙНОСТЬ

Анализ 5 произвольно отобранных образцов сыворотки пациентов показал линейность в условиях пяти последовательных разведений ($< \pm 20\%$). Из-за гетерогенности образцов сыворотки или плазмы человека возможно получение разных результатов.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Общий IgE-HRP EIA определяет молекулы IgE в человеческой сыворотке или плазме. При физиологических концентрациях перекрестная реактивность с другими иммуноглобулинами, такими как IgA, IgD, IgM и IgG, не наблюдается.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. В соответствии со статьей 1 параграф 26 европейского постановления 98/79/ЕС использование in-vitro диагностических медицинских приборов предназначено для обеспечения соответствия, эффективности и безопасности продукта производителем. Таким образом, процедуры испытаний, информация, меры предосторожности и предостережения указанные в инструкции по эксплуатации должны соблюдаться неукоснительно. Набор может быть использован только так, как описано на стр. 2 (назначение).

2. Исследование должно проводиться в соответствии с данной инструкцией, которая содержит всю необходимую информацию, сведения о мерах предосторожности и предостережения. Использование тест набора с анализаторами и аналогичным оборудованием должно быть подтверждено. Любые изменения в конструкции, составе процедуры исследования, а также за любое использование в сочетании с другими продуктами, не одобренными производителем, не разрешено; пользователь сам несёт ответственность за подобного рода изменения, приводящие к ложным результатам и другим инцидентам. Производитель не несёт ответственности за результаты, полученные при зрительном анализе образцов, взятых у пациентов.

3. Исследование должно выполняться только обученным и квалифицированным в области лабораторной диагностики персоналом. Беременные женщины не должны производить исследование.

4. Лабораторное оборудование должно поддерживаться в соответствии с инструкциями изготовителя и перед использованием следует проверить корректность его функционирования.

5. Набор предназначен только для in-vitro диагностики. Используйте только один раз. Не используйте просроченные компоненты. Не используйте реагенты других поставщиков или компоненты наборов различных партий (если только это не указано на стр. 2) с этим набором.

6. Не используйте компоненты набора, если упаковка компонентов повреждена. Пожалуйста, перед использованием проверьте все возможные пути для удаления микробиологической контаминации. Сразу же плотно закройте крышку флакона, чтобы избежать микробиологического заражения. Не меняйте крышки флаконов с реагентами.

7. Набор следует использовать при температуре, указанной в схеме тестирования (см. стр. 4). Использование при более высоких или низких температурах может привести к значениям, не соответствующим диапазону контроля качества.

8. Процедура промывки является абсолютно необходимой. Неправильная промывка может привести к ошибочным результатам. Рекомендуется использовать многоканальную пипетку и автоматизированный промывочный аппарат.

9. Во избежание перекрёстной контаминации и ложноположительных результатов, рекомендуется выполнять все шаги раскупывания надлежащим образом. Используйте только чистые наконечники для пипеток, диспенсеры и лабораторный инвентарь.

10. Тестовые компоненты на основе человеческой сыворотки были протестированы с использованием метода, соответствующего требованиям директив ЕС на наличие антител к ВИЧ 1 / ВИЧ 2, анти-НВс и анти-НСВ, а также антигена гепатита НВsAg и оказались отрицательными. Тем не менее, с материалом на основе сыворотки крови человека следует обращаться как с потенциально инфицированным (БИОЛОГИЧЕСКИ ОПАСНЫМ).

11. Некоторые компоненты набора могут содержать бычий сывороточный альбумин, инфекционный потенциал которого, по заявлению производителя, не известен. Мы рекомендуем обращаться с любым продуктом животного происхождения, как с потенциально инфицированным, из-за возможного появления не выявленных возбудителей инфекций.

12. Следует придерживаться следующих мер безопасности при обращении с реагентами: Избегайте попадания в глаза, на кожу или на одежду (P262). Не вдыхайте распыляемый раствор (P260). Дозирование должно производиться только с помощью специальных инструментов. В случае проглатывания: прополоскать рот. Не вызывайте рвоту (P301/330/331). При попадании на кожу (или волосы): немедленно удалите/снимите всю загрязненную одежду. Промойте кожу водой (P303/361/353). При вдыхании: Выведите пострадавшего на свежий воздух и оставьте в покое в положении наиболее удобном для дыхания (P303/340). При попадании в глаза: в течение нескольких минут тщательно промывайте глаза водой. Если вы носите контактные линзы, снимите их при возможности. Продолжайте промывать глаза. (P305/351/338). Не ешьте, не пейте и не курите во время проведения исследования. Не приближайтесь к еде, кормам и напиткам. Надевайте защитные перчатки/защитную одежду/защиту для глаз (P280). Тщательно мойте руки после работы (P264) и позаботьтесь о своей коже. Сертификат безопасности материала доступен по запросу.

13. Стоп-реагент вызывает серьезные ожоги кожи и повреждение глаз (H314).

14. ТМБ в высоких концентрациях может быть потенциально мутагенным. В связи с низкой концентрацией ТМБ в этом растворе субстрата мутагенный эффект может быть исключен, если он правильно используется.

15. Консерванты (Bronidix, Azid) являются токсичными для водной флоры и фауны, но их концентрация более не опасна для окружающей среды. Разведите реагенты большим количеством воды (H373).

16. Отходы, содержащие сыворотку, должны быть собраны в отдельные контейнеры с соответствующими дезинфицирующими средствами в достаточной концентрации. С данным материалом следует обращаться в соответствии с государственными постановлениями о биологической безопасности и правилами и руководствами по технике безопасности.

17. Настоящим мы ссылаемся на государственные нормативы по медицинскому оборудованию, касательно in-vitro диагностических наборов.

Total IgE **REF** 08102CP  96 Determinations

BACKGROUND

Allergic reactions of the immediate type (Type I allergies) are mediated by allergen specific Immunoglobulin of class E (IgE). The normal serum IgE concentration is age dependent with a peak at the age of 6-15 years. Mostly, the occurrence of allergen specific IgE is accompanied by increased titers of total IgE in the blood of the patients. In these cases the titer can increase up to 1000fold. Usually, IgE concentrations are determined in international units per millilitre (IU/mL) wherein 1 IU corresponds to 2.4 ng of IgE. Highest IgE concentrations occur in patients with atopic dermatitis in which they often reach levels of 50.000 IU/mL. Moreover, increased titers of IgE can be observed in patients with parasitic diseases. Abnormal titers have also been described in certain autoimmune disorders.

INTENDED USE

The Total IgE-HRP EIA is intended for the quantitative determination of IgE in human serum or plasma. The results add to the diagnosis of type I allergies. Furthermore, determination of total IgE is recommended in patients with suspected parasitic diseases.

PRINCIPLE

The Total IgE-HRP EIA for the quantitative measurement of IgE is based on a Sandwich ELISA performed in microplates. During the first incubation step total IgE from the patient sample is captured by anti-human IgE coated to the microwells. By a washing procedure surplus serum/plasma components are removed from the wells whereas IgE remains bound to the solid phase surface.

Detection of bound IgE is carried out with an anti-human IgE horseradish-peroxidase (HRP)-labelled antibody forming anti-IgE/IgE/ conjugate complexes. The wells are washed again, and the substrate solution 3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidine (TMB) is added and incubated, resulting in the development of a blue colour. After stopping the enzymatic reaction with phosphoric acid (H₃PO₄) the colour changes into yellow. The optical density (OD) of the colored product is measured spectrophotometrically at 450 nm (reference wave length 620nm). The sIgE concentration of the patient sample is proportional to the OD. Calibrators with defined concentrations of IgE (calibrated against WHO 75/502) are assayed simultaneously with the patient samples to generate a calibration curve. Unknown IgE concentrations of the test samples are calculated from this curve.

KIT COMPONENTS

Microtiter strips, anti-IgE coated	MICROWELL	12 strips x 8 wells
Anti-IgE HRP-Conjugate	CONJ HRP E	1 x 12 mL
Concentrated Washing Buffer (50x)	WASHBUF C 50x	1 x 30 mL
TMB Substrate	SUB TMB	1 x 12 mL
Stop Solution (25% H ₃ PO ₄)	STOP H₂SO₄	1 x 12 mL
Dilution Buffer	DILBUF A	1 x 12 mL
IgE-Calibrator 1 (5 IU/mL)	CAL 1	1 x 0.5 mL
IgE-Calibrator 2 (20 IU/mL)	CAL 2	1 x 0.5 mL
IgE-Calibrator 3 (50 IU/mL)	CAL 3	1 x 0.5 mL
IgE-Calibrator 4 (100 IU/mL)	CAL 4	1 x 0.5 mL
IgE-Calibrator 5 (200 IU/mL)	CAL 5	1 x 0.5 mL
IgE-Calibrator 6 (1000 IU/mL)	CAL 6	1 x 0.5 mL
IgE-Control low	CONTROL L	1 x 0.5 mL
IgE-Control high	CONTROL H	1 x 0.5 mL

MATERIAL NEEDED, BUT NOT PROVIDED WITH THE KIT

10-100µL and 200-1000µL pipettes, Multipipette, pipet tips, vials for diluting the specimen, graduated glass cylinder, microplate-reader, covering foil, microplate-washer (optional), lab watch, distilled water.

SPECIMEN COLLECTION & PREPARATION

Either Serum or Plasma can be used in this test. No additives or preservatives are necessary to maintain the integrity of the specimen.

Specimens should be stored at 2-8°C and assayed within 48 hours after collection. If the assay cannot be performed within 48 hours or if the specimen has to be shipped, cap the specimen and keep it frozen. Repeated freezing and thawing should be avoided. Frozen specimens should be thawed at room temperature (RT, 20-25°C) and mixed thoroughly by gentle inversion before assaying. Samples have to be diluted 1:6. We recommend to dilute the samples directly in the anti-IgE coated microwells (pipette first 100 µL Dilution buffer, then 20 µL Sample). The use of hemolytic or lipemic specimens is not recommended.

PREPARATION OF REAGENTS

Allow all reagents to come to RT before use. Microtiterstrips which are not required have to be resealed properly in the provided foil bag containing a desiccant.

- Dilution buffer:** ready to use
- Enzyme conjugate:** ready to use
- Substrate Solution:** ready to use
- Stop Solution:** ready to use
- Calibrators and Controls:** ready to use
- Concentrated Washing Buffer:**

The concentrated Washing Buffer has to be diluted 1:50 in aqua bidest. (Example: 2 strips will require 40 mL of Washing Buffer. Therefore 800 µL concentrated Washing Buffer have to be diluted to a final volume of 40 mL with aqua bidest.). The resulting Washing Buffer is stable for one week at RT.

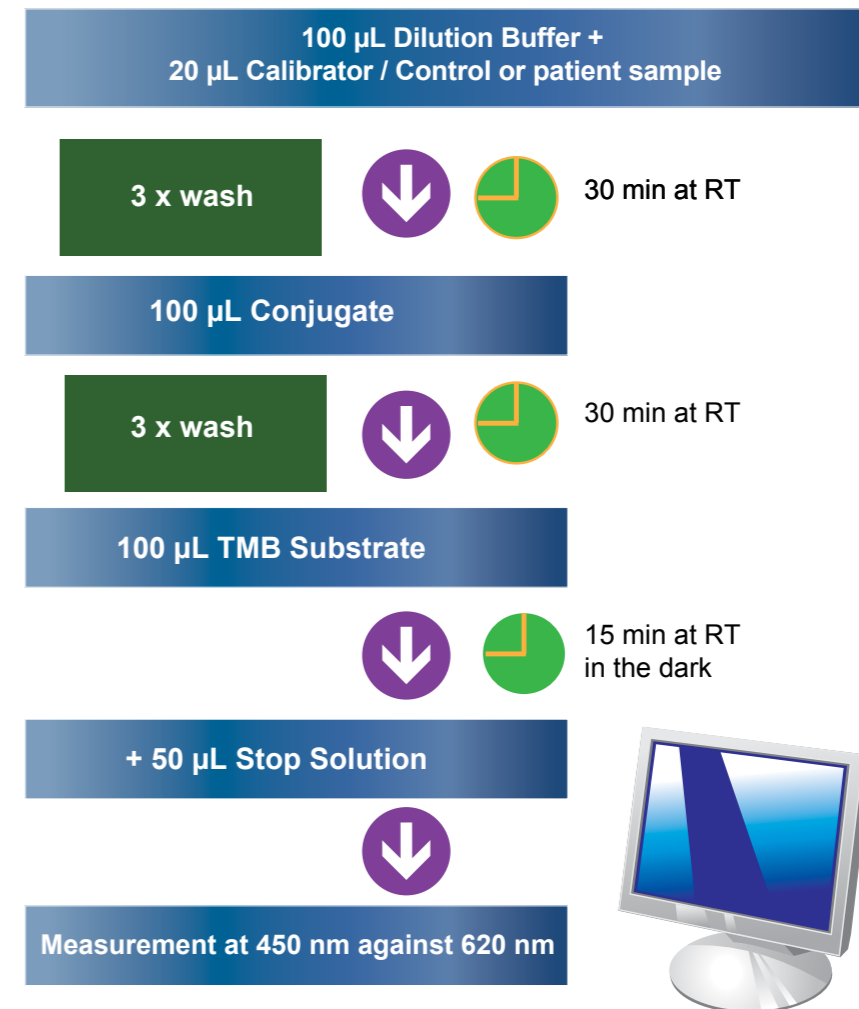
ASSAY PROCEDURE

1. Create a pipetting schedule. It is highly recommended to test the Calibrators and Controls as well as all patient samples in duplicate. To minimize time delays when pipetting, all needed samples should be provided before starting the test. It is recommended to complete pipetting for one plate within 10 min.
2. Place the required coated wells into a frame and reseal the aluminium bag with the remaining strips and desiccant properly.
3. Pipette 100 µL of Dilution Buffer to each well and add 20 µL of appropriate calibrators, controls and patient samples into their respective wells.
4. Cover plate and incubate for 30 min at RT.
5. Wash the plate manually or with an appropriate ELISA plate washer 3 times each with 300 µL Washing Buffer per well. Remove residual liquid by dunking the microplate onto a paper towel.
6. Add 100µL of anti-IgE HRP conjugate to all wells. Cover plate and incubate for 30 min at RT.
7. Repeat washing procedure as described in step 5.
8. Add 100 µL of TMB Substrate to each well, cover the plate and incubate for 15 min at RT in the dark.
9. Pipette 50 µL of Stop Solution in the same order as the substrate to each well. It is recommended to mix the solution in the wells by carefully knocking on the frame. After 5 min read OD at 450 nm (reference wave length 620 nm) using an appropriate microplate reader and calculate the results as described on page 3.

CALCULATION OF RESULTS

The average optical density (OD) [Δ450 nm - 620 nm] values are calculated from the Calibrators, Controls and patient samples. Generate a graph from the mean OD values of the four Calibrators on half logarithmic paper (Abscissa: log IU IgE/mL; Ordinate: linear OD Δ 450 nm – 620 nm) to create a standard curve. The IgE concentration of the patient sample is determined on the basis of this standard curve. The mean OD is mapped on the Ordinate and the result in IU/mL can be read out on the Abscissa. The standard curve and the controls should be in the acceptance range given in the Quality-Control-Certificates delivered with the kit. Otherwise, the test conditions should be verified and the test should probably be repeated.

**TEST SCHEME
Total IgE-HRP EIA**



EXAMPLE CALIBRATOR CURVE

Calibrator Concentration (IU/mL)	OD 450 nm Mean (n=22)	Acceptance range OD 450 nm
5	0.074	0.056 - 0.130
20	0.217	0.163 - 0.271
50	0.438	0.329 - 0.548
100	0.753	0.565 - 0.941
200	1.076	0.907 - 1.345
1000	2.076	1.557 - 2.595

EVALUATION OF THE RESULTS

It is recommended, that expected values for given populations should be determined by each laboratory over a period of time and in a statistically significant number of assays before clinical significance is dedicated to the results of the assay. The values given below can be used as a guideline for the own results.

Age (years)	n	Mean (IU/mL)	Mean + 1 SD (IU/mL)
1-2	29	20	64
3-5	31	35	119
6-15	45	51	150
16-20	59	38	123
21-30	114	27	100
31-40	38	34	113
> 40	109	34	114
Total	425	32	108

SD = Standard deviation

MEASURING RANGE

IgE concentrations between 5 IU/mL and 1000 IU/mL can be determined by this ELISA. Samples with concentrations higher than 1000 IU/mL should be retested in an appropriate dilution to determine the accurate IgE concentration.

PRECISION

Variability and Reproducibility

1. *Intra*-Assay Variability
(1 test in 4fold determination)

Specimen	Mean IU/mL	CV (%)
1 (n=4)	25.8	4.5
2 (n=4)	141.1	4.4
3 (n=4)	397.6	5.3

2. *Inter*-Assay Variability
(3 tests/4 determinations each)

Specimen	Mean IU/mL	CV (%)
1 (n=12)	27.7	6.4
2 (n=12)	148.5	6.1
2 (n=12)	415.2	9.9

LINEARITY

Linearity of this quantitative immunoassay has been ensured using 5 randomly selected patient sera by serial dilutions showing a linear behaviour in five consecutive dilution steps ($\leq \pm 20\%$). Due to the heterogeneity of human material different results may be possible.

SPECIFICITY

The Total IgE-HRP EIA specifically detects human IgE molecules. In physiological concentrations no cross-reactivity to other Immunoglobulins such as IgA, IgD, IgM and IgG has been observed.

PRECAUTIONS FOR USERS

- In compliance with article 1 paragraph 2b European directive 98/79/EC the use of in-vitro diagnostic medical devices is intended to secure suitability, performance and safety of the product by the manufacturer. Therefore the test procedure, information, precautions and warnings stated in the instructions for use have to be followed strictly. The kit has only to be used as described on page 7 (intended use).
- The test must be performed according to this instruction, which contains all necessary information, precautions and warnings. The use of the test kit with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition of the test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes resulting in false results and other incidents. The manufacturer is not liable for any results obtained by visual analysis of patient samples.
- The kit is intended for use by trained and qualified professionals carrying out research or diagnostic activities only. Pregnant women should not perform the test.
- Laboratory equipment has to be maintained according to the manufacturer's instructions and must be tested for its correct function before use.
- For in-vitro diagnostic use only. Use only once. Do not use components exceeding the expiry date. Do not combine reagents of other suppliers or kit components of different lots (unless specified on page 7) with this kit.
- Do not use kit components when the package of the component is damaged. Please check all solutions prior to use for microbiological contamination. Cap vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbiological contamination. Do not interchange screw caps of the reagent vials.
- The kit was evaluated for use at the temperatures specified in the Testing scheme (see page 9). Higher or lower temperatures may result in values not meeting the quality control ranges.
- The washing procedure is absolutely important. Improper washing will cause erroneous results. It is recommended to use a multichannel pipette and an automated washer.
- To avoid cross-contamination and false-positive results it is recommended to perform all pipetting steps properly. Use only clean pipette tips, dispensers and lab ware.
- Test components based on human serum were tested using a CE marked method for the presence of antibodies against HIV 1 / HIV 2, Anti-HBc, and Anti-HCV as well as for hepatitis antigen HBsAg and were found to be negative. Nevertheless, material based on human serum should be handled as potentially infectious (BIOHAZARD).

- Some kit components may contain bovine serum albumin, of which according to the manufacturer no infectious potential is known. Due to the eventual occurrence of undetectable infectious agents we recommend to handle any product of animal origin as potentially infectious.
- The following safety rules should be followed with all reagents:
 - Do not get in eyes, on skin, or on clothing (P262). Do not breathe spray (P260). Pipetting should never be done by mouth, but with suitable pipetting devices.
 - IF SWALLOWED: rinse mouth. Do NOT induce vomiting (P301/330/331)
 - IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower (P303/361/353).
 - IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing (P303/340).
 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. (P305/351/338)
 - Don't eat, drink or smoke while performing the test. Keep away from food, feed and beverage.
 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection (P280). Wash hands thoroughly after handling (P264) and care for your skin.
 - Material safety data sheet is available on request.
- Stop Solution causes severe skin burns and eye damage (H314).
- TMB in high concentrations may be potentially mutagenic. Due to the low concentration of TMB in this substrate solution a mutagenic effect can be ruled out, if it is properly used.
- The preservatives (Bronidix, Azid) are toxic to aquatic life, but their concentration is not hazardous to environment anymore. On disposal, flush large volumes of reagents with plenty of water (H373).
- Waste containing serum must be collected in separate containers containing an appropriate disinfectant in sufficient concentration. This material has to be treated according to national biohazard and safety guidelines or regulations.
- We refer to the national regulations of medical devices regarding in-vitro diagnostic test kits.

LITERATURE

- Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook M: Physicochemical Properties of Human Reaginic Antibody IV. Presence of a Unique Immunoglobulin as a Carrier of Reaginic Activity J Immunol 1966, 97: 75-85.
- Hamilton R: Radioimmunoassay in the Assessment of Allergic Disease, Ligand Quarterly 1979, 2:13-19.
- Johansson S, Bennich H, Berg T: The Clinical Significance of IgE. Progress in Clin. Immunol. 1 (1972).
- Kjellman, M.: Immunoglobulin IgE and Atopic Allergy in Childhood. Linköping University Medical Dissertations No 36 (1976).
- Wittig H, Bellot J, Fillippi I, Royal G: Age-related Serum IgE Levels in Healthy Subjects and in Patients with Allergic Disease. J Allergy Clin Immunol 1980, 66:305-313.
- Gleich, G., Averbeck, A., and Swedlund, H.: Measurement of IgE in Normal and Allergic Serum by Radioimmuno-assay. J Lab and Clin Med 1971, 77:690-698.
- Arbeitsgruppe der Deutschen Diagnostika Gruppe e.V. (DDG): Gute Labordiagnostische Praxis GLDP, Konzept einer „Guten Labordiagnostischen Praxis“. Clin Lab 1999; 45: 569-580.

DR. FOOKE
LABORATORIEN GMBH

Тел.: +7 (495) 799-1165
E-mail: info@fooke.ru
www.fooke.ru