



2 °C



8 °C

**DR FOOKE**

Lütfen testi uygulamadan önce talimatları dikkatlice okuyun.

## Toplam IgE ALLERG-O-LIQ

İnsan serumu veya plazmasındaki  
toplam IgE'nin kantitatif olarak belirlenmesi için enzim immün testi



08101FL



96 Tayin

### ARKA PLAN

Ani tipteki alerjik reaksiyonlara (tip I alerji) alerjene özgü E sınıfı immünooglobulinler (IgE) aracılık eder. IgE'nin normal serum konsantrasyonu yaşa bağlıdır ve 6-15 yaşlarında en yüksek değerine ulaşır. Birçok vakada, alerjene özgü IgE oluşumuna hastanın kanındaki toplam IgE konsantrasyonunda önemli bir artış eşlik eder. Bu durumlarda kandaki IgE seviyesi 1000 kat artabilir. IgE konsantrasyonu IU/mL cinsinden verilmiştir; 1 IU yaklaşık 2,4 ng IgE'ye karşılık gelir. En yüksek IgE konsantrasyonları (50000 IU/mL'ye kadar) atopik dermatit hastalarında bulunur. Ayrıca, parazit enfeksiyonlarında da toplam IgE seviyelerinde yükselme görülür. Bazı otoimmün hastalıklarda da anormal antikor titreleri tanımlanmıştır.

### KULLANIM AMACI

Mevcut Toplam IgE testi, insan serumu veya plazmasındaki toplam IgE konsantrasyonunu tayin etmek ve tip I alerjilerinin teşhisini desteklemek için kullanılmaktadır. Ayrıca, paraziter enfeksiyon şüphesi olan durumlarda toplam IgE düzeyinin tayin edilmesi önerilir.

### TEST PRENSİBİ

İnsan serumu veya plazmasındaki toplam IgE'nin kantitatif tayini için kullanılan enzim immün testi, mikrotiter plakalarında gerçekleştirilen bir "sandviç ELISA" yöntemidir. Bireysel boşluklar, ilk inkübasyon adımında hasta numunesinden alınan toplam IgE fraksiyonunu bağlayan anti-insan IgE ile kaplanmıştır. Fazla serum/plazma bileşenleri yıkama yoluyla uzaklaştırılır. Toplam IgE, katı fazda bağlı anti-IgE/IgE/konjugat kompleksleri oluşturan bir anti-IgE biyotin konjugatı aracılığıyla tespit edilir. Fazla anti-IgE biyotin molekülleri uzaklaştırıldıktan sonra, streptavidin-HRP konjugatı eklenir. Yeni bir yıkama aşamasından sonra, HRP altlığı 3,3',5,5'-tetra-metil-benzidin (TMB) eklenir ve bu da mavi bir boya oluşmasına yol açar. Asit kullanılarak enzimatik reaksiyon durdurulduktan sonra renk sarıya dönüşür.

Renkli reaksiyon ürününün optik yoğunluğu (OD), 450 nm'de (referans dalga boyu 620 nm) ölçülür. Hasta numunesindeki IgE konsantrasyonu, belirlenen OD değeriyle doğru orantılıdır. Bilinen IgE konsantrasyonlarına sahip (DSÖ 75/502 standardına göre kalibre edilmiş) kalibratörler referans görevi görür. Kalibratörlerin optik yoğunluk (OD) değerlerine dayanarak bir standart eğri oluşturulur ve bu eğri, bilinmeyen numunelerin IgE konsantrasyonlarını belirlemek için kullanılabilir.

### KİT BİLEŞENLERİ

Mikrotiter plakası, Anti-IgE kaplı	<b>MICROWELL</b>	Her biri 8 kuyucuktan oluşan 12 şerit
Anti-IgE biyotin	<b>BIOTIN   AB   E</b>	1 x 16 mL
Streptavidin HRP konjugatı	<b>CONJ   HRP   STREP</b>	1 x 16 mL
Yıkama tamponu konsantresi (25x)	<b>WASHBUF   B   25x</b>	1 x 50 mL
TMB Substratı	<b>SUB   TMB</b>	1 x 16 mL
Durdurma çözeltisi (0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	<b>STOP   H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	1 x 16 mL
Seyreltme tamponu	<b>DILBUF   A</b>	1 x 50 mL
IgE Kalibratörü 1 * (0 IU/mL)	<b>CAL   1</b>	1 x 1,5 mL
IgE Kalibratörü 2 * (0,7 IU/mL)	<b>CAL   2</b>	1 x 1,5 mL
IgE Kalibratörü 3 * (3,5 IU/mL)	<b>CAL   3</b>	1 x 1,5 mL
IgE Kalibratörü 4 * (17,5 IU/mL)	<b>CAL   4</b>	1 x 1,5 mL
IgE Kalibratörü 5 * (50 IU/mL)	<b>CAL   5</b>	1 x 1,5 mL
IgE Kalibratörü 6 * (100 IU/mL)	<b>CAL   6</b>	1 x 1,5 mL
Düşük IgE kontrolleri	<b>CONTROL   L</b>	1 x 1,5 mL
Yüksek IgE kontrolleri	<b>CONTROL   H</b>	1 x 1,5 mL

\*Kalibratörler önceden seyreltilmiştir; konsantrasyonlar 10 ile çarpılmalıdır.

## KİTE DÂHİL OLMAYAN GEREKLİ MALZEMELER

10-100 µL, 200-1000 µL pipetler, çoklu pipet, pipet uçları, numune hazırlama için reaksiyon kapları, dereceli ölçüm silindiri, ELISA okuyucu (450 nm filtre, 620 nm filtre de önerilir), örtü kağıdı, laboratuvar zamanlayıcısı (saat), damıtılmış su, mikrotiter plaka yıkama cihazı (isteğe bağlı).

## NUMUNE İLE ÇALIŞMA

Test için serum veya plazma kullanılabilir. Numuneler için herhangi bir koruyucu maddeye gerek yoktur.

Serum numuneleri 2-8 °C'de bir hafta boyunca stabildir. Numuneler daha uzun süre saklanabilmesi için dondurulmalıdır. Tekrarlanan dondurma ve çözündürme işlemlerinden kaçınılması gerekmektedir. Dondurulmuş numuneleri oda sıcaklığında (20-25 °C) çözün ve kullanmadan önce iyice karıştırın. Numuneler seyreltilmeden test edilmelidir. Lipaemik ve hemolitik serumlar kullanılmamalıdır.

## REAKTİF HAZIRLAMA

Tüm numuneler ve reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilmelidir.

Kullanılmamış test şeritleri, nem çekici paketle birlikte dikkatlice kapatılmış alüminyum poşet içinde saklanmalıdır.

<b>Seyreltme tamponu:</b>	kullanıma hazır
<b>Anti-IgE biotin:</b>	kullanıma hazır
<b>Enzim konjugatı:</b>	kullanıma hazır
<b>Kalibratörler:</b>	kullanıma hazır
<b>Substrat çözeltisi:</b>	kullanıma hazır
<b>Durdurma çözeltisi:</b>	kullanıma hazır

### Yıkama tamponu konsantresi:

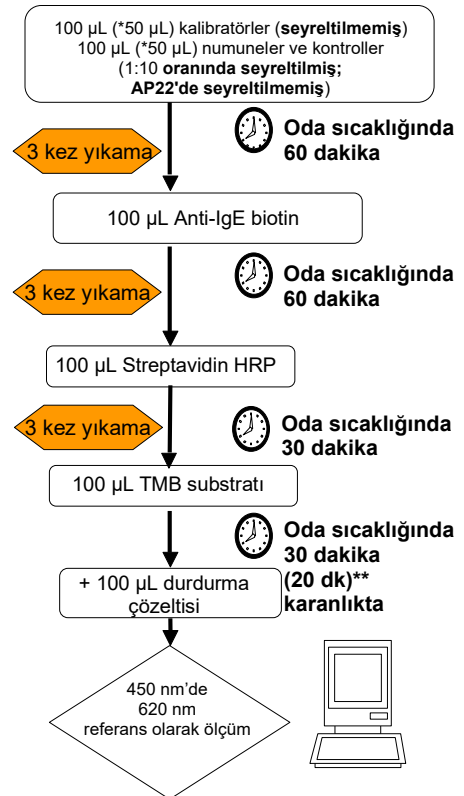
Yıkama tamponu konsantresi, damıtılmış su ile 1:25 oranında seyreltilir (örnek: İki şerit için 40 mL yıkama tamponu gereklidir). Bunun için 1,6 mL yıkama tamponu konsantresinidamıtılmış suyla seyrelterek 40 mL'ye tamamlayın. Kullanıma hazır yıkama solüsyonu, oda sıcaklığında bir hafta boyunca kullanılabilir.

## TESTİN UYGULANMASI

- Öncelikle bir test protokolü oluşturulması gerekir. Kalibrasyonların ve kontrollerin çift tayin olarak ölçülmesi önerilir.
- Gerekli IgE karşıtı kaplamalı boşlukları çerçeveye yerleştirin. Ardından kalan şeritleri ve nem alma paketini alüminyum poşete koyarak sıkıca kapatın.
- Anti-IgE kaplı boşluklara 90 µL seyreltme tamponu dağıtın (istisnalar: kalibratörler için tasarlanmış boşluklar ve AP22 ile işlem yapılırken) ve sağlanan seyreltme tamponuna 10 µL kontrol ve hasta numunesi pipetleyin. Seyreltilmemiş kalibratörlerden 100 µL'yi belirtilen boşluklara pipetleyin (\*AP22'de işlendiğinde 50 µL).
- Plakayı örtün ve oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edin.
- Üç yıkama döngüsündeki boşluklar, her birinde Her bir boşluk için 300 µL yıkama solüsyonunu elle veya uygun bir yıkama cihazı kullanarak yıkayın. Kalan sıvıyı bir kağıt havluyla hafifçe vurarak temizleyin.

- Her bir boşluğa 100 µL anti-IgE biotin pipetleyin. Plakayı örtün ve oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edin.
- Plakayı (5. maddede anlatıldığı gibi) tekrar yıkayın.
- Her bir boşluğa 100 µL streptavidin-HRP konjugatı pipetleyin. Plakayı örtün ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.
- Plakayı (5. maddede anlatıldığı gibi) tekrar yıkayın.
- Her bir boşluğa 100 µL TMB substratı pipetleyin ve kapalı plakayı oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika (\*\*AP22'de 20 dakika) inkübe edin.
- Substrat ekleme işleminde olduğu gibi, her bir boşluğa 100 µL durdurma çözeltisi pipetleyin. Çözeltinin, plakanın çerçevesine hafifçe vurarak boşluklarda karıştırılması önerilir. 5 dakika sonra, uygun bir ELISA okuyucu kullanarak plakayı 450 nm'de ölçün (referans dalga boyu 620 nm). Numunelerin ve kontrollerin konsantrasyonları 3. sayfada açıklandığı gibi hesaplanır.

## Toplam IgE ALLERG-O-LIQ TEST ŞEMASI



\* AP22 cihazında işlendiğinde 50 µL

\*\* AP22 üzerinde 20 dakika inkübasyon

## SONUÇLARIN HESAPLANMASI

Sonuçların hesaplanmasında onaylanmış değerlendirme yazılımlarının kullanılması önerilir. Manuel hesaplama için, OD'lerin [ $\Delta$  450 nm - 620 nm] ortalama değerleri, kalibratörlerin ve kontrollerin çift tayin olarak ölçülmesiyle hesaplanır. Altı kalibratörün OD ortalama değerleri kullanılarak, yarı logaritmik kağıt üzerinde bir standart eğri oluşturulur (yatay eksen: log IU IgE/mL; dikey eksen: doğrusal OD  $\Delta$  450 nm – 620 nm). Standart eğri kullanılarak, ilgili hasta numunesinin ve kontrollerin IgE konsantrasyonları, OD değerinin dikey eksene yerleştirilmesi ve sonucun IU/mL cinsinden yatay eksende okunmasıyla belirlenir. Standart eğri ve kontroller, beraberindeki kalite kontrol sertifikasının güven aralığı içinde olmalıdır. Aksi takdirde, test koşulları kontrol edilmeli ve gerekirse test tekrarlanmalıdır.

## ÖRNEK STANDART EĞRİ

Kalibratör konsantrasyonu (IU/mL)	OD 450 nm Ortalama değer (n=22)	Referans aralığı OD 450 nm
0	0,039	0,027 - 0,051
7	0,155	0,108 - 0,201
35	0,564	0,395 - 0,733
175	1,823	1,276 - 2,370
500	2,648	1,854 - 3,443
1000	3,189	2,233 - 4,146

## NORMAL ARALIKLAR

Her laboratuvarın, sonuçların klinik değerlendirmesine geçmeden önce, istatistiksel olarak anlamlı sayıda numuneye belirli bir süre boyunca yaşa bağlı normal aralıklarını belirlemesi önerilir. Burada listelenen sonuçlar (Wittig ve diğerleri), kişinin kendi referans değerleri için bir kılavuz olarak kullanılabilir.

Yaş (yıl)	n	MW (IU/mL)	MW + 1 SA (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
Top.	425	32	108

MW = ortalama değer; SA = standart sapma

## ÖLÇÜM ARALIĞI

Bu ELISA, 5 ila 1000 IU/mL aralığındaki IgE konsantrasyonlarını tespit eder. IgE konsantrasyonu 1000 IU/mL'nin üzerinde olan numuneler seyreltilmeli ve kesin IgE konsantrasyonunu belirlemek için yeniden test edilmelidir.

## KESİNLİK

Varyasyon ve tekrarlanabilirlik

### 1. Test İçi Varyasyon

(Dörtlü tayinde 1 test)

serum	Ortalama değer IU/mL	VK (%)
1 (n=4)	339,7	3,9
2 (n=4)	41,5	1,5
3 (n=4)	9,4	8,8

### 2. Testler Arası Varyasyon

(Çift tayinde 2 test)

serum	Ortalama değer IU/mL	VK (%)
1 (n=4)	331,0	3,0
2 (n=4)	105,3	0,5
3 (n=4)	34,1	1,7

## DOĞRUSALLIK

Rastgele seçilen beş serum, beş ardışık seyreltme adımında doğrusal bir eğilim ( $\leq \pm \%20$ ) göstermektedir. İnsan serum veya plazma numunelerinin heterojen yapısı nedeniyle, farklı sonuçlar elde edilebilir.

## ÖZGÜLLÜK

Bu IgE testi, fizyolojik konsantrasyonlarda diğer Ig sınıflarıyla çapraz reaksiyon göstermemektedir.

## REFERANS YÖNTEMİNE UYUM

Korelasyon katsayısı  $R^2 = 0,96$  idi (Toplam IgE HRP EIA'ya göre, REF: 08102CP) ve  $R^2 = 0,88$  (ImmunoCAP®) olarak belirlendi.

## KAYNAKÇA

- Ishizaka K, Ishizaka, T, Hornbrook MM: **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* 1972, **1**
- Kjellman M: **Immunoglobulin IgE and Atopic Allergy in Childhood.** *Linköping University Medical Dissertations* 1976, No 36.
- Wittig, H., Bellot, J., Fillippi, I. and 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 Radioimmunoassay.** *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.

## ÖNEMLİ BİLGİLER

1. AB Direktifi 98/79/AT'nin Ek I'ine göre, üretici, *in vitro* tanı amaçlı tıbbi cihazların uygunluğunu, performansını ve güvenliğini sağlamak için bu cihazların kullanım amacını belirtmelidir. Bu nedenle, üretici tarafından belirtilen kullanım amacına yetkili kullanıcı grubu tarafından uyulmalıdır. Bu test kiti yalnızca kullanım amacında belirtilen amaç için tasarlanmıştır (bkz. sayfa 1).
2. Test; gerekli tüm bilgileri, güvenlik önlemlerini ve uyarıları içeren bu kullanım talimatlarına uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Test kitini teşhis cihazlarında kullanırken test yöntemi genişletilmiş bir şekilde doğrulanmalıdır. Görünüş, bileşim ve test uygulamasında herhangi bir değişiklik yapılmasına ve üretici tarafından yetkilendirilmeyen diğer ürünlerle birlikte kullanılmasına izin verilmemektedir. Bu tür değişikliklerden kullanıcı sorumludur. Üretici, bu tür nedenlerden kaynaklanan hatalı sonuçlardan ve olaylardan sorumlu değildir. Görsel değerlendirilmeden kaynaklanan hatalı sonuçlar için sorumluluk kabul edilmemektedir.
3. Ürün, sadece eğitimli uzmanlar tarafından kullanılmalıdır. Hamile kadınlar test yapmamalıdır.
4. Kullanılan cihazların bakımı üreticinin talimatlarına uygun olarak düzenli olarak yapılmalı ve kullanımdan önce düzgün çalışıp çalışmadığı kontrol edilmelidir.
5. Reaktifler, *in-vitro* teşhis için tasarlanmıştır ve sadece tek kullanımlıdır. Son kullanma tarihi geçmiş olan reaktifler kullanılmamalıdır. Bu test kitinin reaktifleri ile başka üreticilerin reaktiflerini veya farklı serilere ait set bileşenlerini (istisnalar için bkz. sayfa 1) birleştirmeyin.
6. Bileşenlerin ambalajı hasarlıysa kit bileşenlerini kullanmayın. Kullanmadan önce tüm çözeltileri mikrobiyal kontaminasyon açısından gözle kontrol edin. Buharlaşmayı ve mikrobiyal kontaminasyonu önlemek için kullanımdan hemen sonra şişeleri sıkıca kapatın. Aynı reaktiflerin kapaklarını karıştırmayın.
7. Test kiti, test şemasında belirtilen sıcaklıklar için doğrulanmıştır (bkz. sayfa 2). Daha yüksek veya daha düşük sıcaklıklarda sonuçlar referans aralıklarından sapabilir.
8. Yıkama prosedürü büyük önem taşımaktadır. Yetersiz yıkama yanlış sonuçlara yol açmaktadır. Çok kanallı pipetlerin ve otomatik yıkayıcıların kullanılması tavsiye edilmektedir.
9. Çapraz kontaminasyonu ve hatalı yüksek sonuçları önlemek için hasta numunelerini ve konjugatı boşluklara dikkatlice pipetleyin. Sadece temiz pipet uçları, dağıtıcılar ve laboratuvar malzemeleri kullanın.
10. İnsan kaynaklı test bileşenleri (kalibratörler ve kontroller) CE işaretli yöntemlerle anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc ve anti-HCV açısından test edilmiş ve reaktif olmadıkları bulunmuştur. Bu sonuçlara bakılmaksızın tüm insan serumu bazlı reaktifler, potansiyel bulaşıcı (biyolojik tehlikeli) olarak kabul edilmelidir.
11. Tedarikçiye göre bulaşıcı olmadığı bilinen sığır serum albümini bazı kit bileşenlerinde bulunabilir. Saptanamayan enfeksiyöz etkenlerin mevcut olabileceği göz önüne alındığında, hayvansal kökenli tüm ürünlerin potansiyel olarak enfeksiyöz olarak değerlendirilmesi önerilir.
12. Tüm reaktifler için aşağıdaki güvenlik düzenlemelerine özel dikkat gösterilmelidir:
  - Gözünüze, cildinize veya giysilerinize temas ettirmeyin (P262). Aerosölü solumayın (P 260). Asla ağız yoluyla pipetleme yapmayın, sadece standart pipetleme yardımcılarını kullanın.



### DR. FOOKE

Laboratorien GmbH

Habichtweg 16

184

4 1 4 6 8 Neuss

E-posta: [information@fooke-labs.de](mailto:information@fooke-labs.de)

İnternet adresi: [www.fooke-labs.de](http://www.fooke-labs.de)

Tel.: 0049-2131-2984-0

Faks: 0049-2131-2984-

Lot Numarası	CE uygunluk işareti	<i>In-vitro</i> tanı	Sıcaklık sınırlaması	SKT	Katalog numarası	Kullanım talimatlarına uyulması gerekir	Ambalajı hasarlıysa kullanmayın	Tek kullanımlık	<n> test için yeterli içerik	Üretici firma	Biyolojik Tehlikeli