



2 °C



8 °C



Lütfen testi uygulamadan önce talimatları dikkatlice okuyun.

Toplam IgE-HRP EIA

Kantitatif tayin için enzim immün testi
insan serumunda veya plazmasında toplam IgE miktarı



08102CP



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 olarak verilir; burada 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 antikör titreleri tanımlanmıştır.

KULLANIM AMACI

Toplam IgE-HRP EIA, insan serumu veya plazmasındaki toplam IgE konsantrasyonunu tayin etmek için kullanılabilir ve tip I alerjilerinin teşhisini destekler. 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 kuluçka aşamasında hasta numunesinin toplam IgE fraksiyonunu bağlayan anti-insan IgE ile kaplanır. Fazla serum/plazma bileşenleri yıkama yoluyla uzaklaştırılır. Toplam IgE'nin tespiti, katı fazla bağlı anti-IgE/IgE/konjugat komplekslerin oluşumu ile anti-IgE/peroksidaz (HRP) konjugatı tarafından gerçekleştirilir. 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.

Enzimatik reaksiyon sülfürik asit (H₂SO₄), renk sarıya dönüşür.

Renkli reaksiyon ürününün optik yoğunluğu (OD), 450 nm'de (referans dalga boyu 620 nm) ölçülür. Hasta numunesindeki IgE konsantrasyonu, belirlenen OD ile doğrudan orantılıdır. Bilinen IgE konsantrasyonlarına sahip kalibratörler (DSÖ 11/234'e kalibre edilmiştir) referans olarak hizmet verir. Kalibratörlerin OD'larına dayanarak, bilinmeyen numunelerin IgE konsantrasyonlarının belirlenebildiği standart bir eğri oluşturulur.

KİT BİLEŞENLERİ

| | | |
|--|---|-----------------------------|
| Mikrotiter plakası, Anti-IgE kaplı | MICROWELL | Her biri 8 kuyuyla 12 şerit |
| Anti-IgE HRP Konjugatı | CONJ HRP E | 1 x 12 mL |
| Yıkama tamponu konsantresi (25x) | WASHBUF B 25x | 1 x 50 mL |
| TMB Substratı | SUB TMB | 1 x 12 mL |
| Durdurma çözeltisi (0,5 M H ₂ SO ₄) | STOP H₂SO₄ | 1 x 12 mL |
| Seyreltme tamponu | DILBUF A | 1 x 12 mL |
| IgE Kalibratörü 1 (5 IU/mL) | CAL 1 | 1 x 0.5 mL |
| IgE Kalibratör 2 (20 IU/mL) | CAL 2 | 1 x 0.5 mL |
| IgE Kalibratör 3 (50 IU/mL) | CAL 3 | 1 x 0.5 mL |
| IgE Kalibratör 4 (100 IU/mL) | CAL 4 | 1 x 0.5 mL |
| IgE Kalibratörü 5 (200 IU/mL) | CAL 5 | 1 x 0.5 mL |
| IgE Kalibratör 6 (1000 IU/mL) | CAL 6 | 1 x 0.5 mL |
| Düşük IgE kontrolleri | CONTROL L | 1 x 0.5 mL |
| Yüksek IgE kontrolleri | CONTROL H | 1 x 0.5 mL |

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. Kan alındıktan sonra numuneler 2-8 °C sıcaklıkta saklanmalı ve ardından bir hafta boyunca stabil hale getirilmelidir. Numuneler daha uzun süre saklanıyorsa veya gönderilmesi gerekiyorsa, numuneler dondurulmalıdır. Tekrarlanan dondurma ve çözündürme işlemlerinden kaçınılması gerekmektedir. Dondurulmuş numuneler oda sıcaklığında (RT; 20-25 °C) çözülmeli ve kullanımdan önce iyice karıştırılmalıdır. Numuneler 1:6 seyreltilmelidir. Serumun doğrudan anti-IgE kaplı mikrotiter plakasında (mevcut 100 µL seyreltme tamponu, 20 µL pipet numunesi) seyreltilmesini öneriyoruz. Lipemik ve hemolitik serumların kullanılmaması tavsiye edilir.

REAKTİF HAZIRLAMA

Tüm numuneler ve reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilmelidir.

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

Seyreltme tamponu: kullanıma hazır
Enzim konjugatı: kullanıma hazır
Substrat çözeltisi: kullanıma hazır
Durdurma çözeltisi: kullanıma hazır
Kalibratörler ve kontroller: kullanıma hazır

Yıkama tamponu konsantrisi:

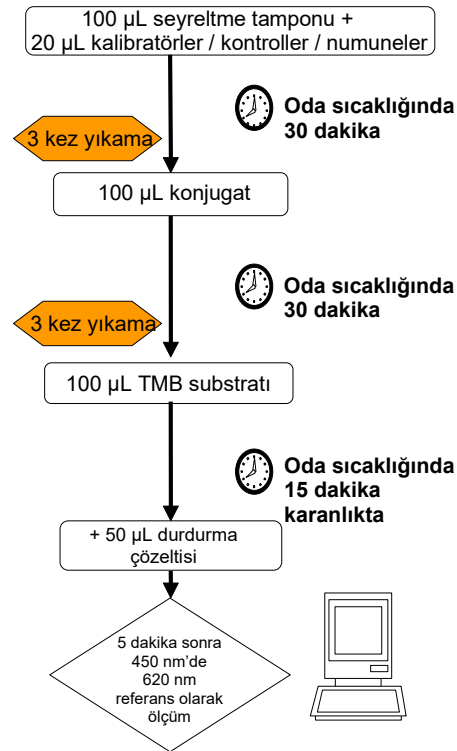
Yıkama tamponu konsantrisi, damıtılmış su ile 1:25 oranında seyreltilir (örnek: İki şerit için 50 mL yıkama tamponu gereklidir). Bunun için 2 mL yıkama tamponu konsantrisini damıtılmış suyla seyrelterek 50 mL'ye tamamlayın. Kullanıma hazır yıkama solüsyonu, oda sıcaklığında bir hafta boyunca kullanılabilir.

TESTİN UYGULANMASI

- Öncelikle bir test protokolü oluşturulmalıdır. Kalibratörlerin, kontrollerin ve hasta numunelerinin çift tayin olarak ölçülmesi önerilir. Pipetleme sırasında zaman gecikmelerini en aza indirmek için tüm gerekli numuneler test başlamadan önce sağlanmalıdır. Bir plaka için pipetlemenin 10 dakika içinde tamamlanması önerilir.
- Gerekli IgE karşıtı kaplamalı boşlukları çerçeveye yerleştirin. Ardından kalan şeritleri ve nem alma paketini alüminyum poşete koyarak sıkıca kapatın.

- 100 µL seyreltme tamponu anti-IgE kaplı boşluklara dağıtın ve 20 µL seyreltilmemiş kalibratör, kontrol ve hasta numunelerini gönderilen seyreltme tamponuna pipet yapın.
- Plakayı örtün ve oda sıcaklığında 30 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 havluya hafifçe vurarak temizleyin.
- Her boşluğa 100 µL anti-IgE HRP boru ile aktarın. Plakayı örtün ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.
- Plakayı (5. maddede anlatıldığı gibi) tekrar yıkayın.
- Her boşluğa 100 µL TMB substratı pipet uygulayın ve karanlıkta RT'de 15 dakika boyunca örtülü plakayı inkübe edin.
- Her boşluğa 50 µL durdurma çözeltisi, substrat eklendiğinde olduğu kronolojik sırayla pipetlenir. 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.

TEST ŞEMASI: Toplam IgE-HRP EIA



SONUÇLARIN HESAPLANMASI

OD'lerin ortalama değerleri [Δ 450 nm - 620 nm] 6 kalibratör, kontrol ve hasta numunelerinin çift tayı olarak ölçülmesinden elde edildi. Kalibratörlerin OD ortalama değerleri, yarı-logaritmik kağıtta standart bir eğri oluşturmak için kullanılır (abscissa: log IU IgE/mL; ordinate: lineer OD Δ 450 nm – 620 nm). Standart eğri kullanılarak, ilgili hasta numunesi ve kontrollerin IgE konsantrasyonları, ordinata OD ortalama değeri girilerek ve absissa üzerindeki IU/mL oranında sonuç okunarak 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 |
|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| 1000 | 2,076 | 1,557 - 2,595 |
| 200 | 1,076 | 0,807 - 1,345 |
| 100 | 0,753 | 0,565 - 0,941 |
| 50 | 0,438 | 0,329 - 0,548 |
| 20 | 0,217 | 0,163 - 0,271 |
| 5 | 0,074 | 0,056 - 0,130 |

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, kişinin kendi referans değerleri için bir rehber 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) | 25,8 | 4,5 |
| 2 (n=4) | 141,1 | 4,4 |
| 3 (n=4) | 397,6 | 5,3 |

2. Testler Arası Varyasyon

(Dörtlü tayinde 3 test)

| serum | Ortalama değer IU/mL | VK (%) |
|----------|----------------------|--------|
| 1 (n=12) | 27,7 | 6,4 |
| 2 (n=12) | 148,5 | 6,1 |
| 3 (n=12) | 415,2 | 9,9 |

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

Toplam IgE-HRP EIA, belirli insan IgE'sini tespit etmek için kullanılır. Fizyolojik konsantrasyonlarda, IgA, IgD, IgM ve IgG gibi diğer Ig sınıflarıyla çapraz reaktivite tespit edilemedi.

KAYNAKÇA

- 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* 1972, **1**.
- 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, 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 1. Maddesinin 2b paragrafına göre üretici; in vitro tanı tıbbi cihazlarının uygunluğunu, performansını ve güvenliğini sağlamak için kullanım amacını belirler. 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 değerlendirmeden 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. Ayrı 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.
 - YUTULMASI DURUMUNDA: Ağızınızı çalkalayın. Kişiyi kusturmaya çalışmayın (P301/330/331).
 - CİLTLE (veya saçla) TEMASI DURUMUNDA: Kirlenmiş, ıslanmış tüm giysileri derhal çıkarın. Cildi su/duş ile yıkayın (P303/361/353).
 - SOLUNMASI DURUMUNDA: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve nefes almak için rahat bir pozisyonda dinlendirin (P304/340).
 - GÖZLERLE TEMAS DURUMUNDA: Birkaç dakika boyunca gözleri su ile nazikçe durulayın. Kontakt lens varsa çıkarın. Durulamaya devam edin (P305/351/338).
 - Test esnasında yemek yemek, sigara ve içki içmek yasaktır. Reaktifleri yiyecek, içecek ve hayvan yemlerinden uzak tutun.
 - Kit reaktifleri veya hasta numuneleri ile çalışırken önlük, koruyucu gözlük ve tek kullanımlık eldiven (P280) kullanın. Kullanımdan sonra ellerinizi iyice yıkayın (P264).
 - Güvenlik bilgi formları talep üzerine temin edilebilir.
13. Durdurma çözeltilisi ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur (H314).
14. TMB yüksek konsantrasyonlarda potansiyel olarak mutajenik olabilir. Substrat çözeltilisindeki düşük TMB konsantrasyonu nedeniyle, uygun şekilde kullanıldığında mutajenik bir etki söz konusu değildir.
15. İçindeki koruyucu maddeler (Bronidox L) sucul organizmalar için zehirlidir, ancak artık su için tehlikeli bir konsantrasyona sahip değildir. Büyük miktarlardaki reaktifler bertaraf edilmeden önce su ile seyreltilmelidir.
16. Serum içeren atıklar, yeterli konsantrasyonda uygun bir dezenfektan içeren atık kaplarında toplanmalıdır. Atıklar, ilgili ülkenin yönetmeliklerine uygun olarak işlenmelidir.
17. Tıbbi Cihaz Operatörleri Yönetmeliği'ne, güncel haliyle Alman Tabipler Birliği (RiliBÄK) kılavuzuna ve "İyi Laboratuvar Tanı Uygulamaları, GLDP"ye uyulmaktadır.



DR. FOOKE

Laboratorien GmbH

Habichtweg 16

4 1 4 6 8 Neuss

E-posta: information@fooke-labs.de

İnternet adresi: www.fooke-labs.de

Tel.: 0049-2131-2984-0

Faks: 0049-2131-2984-184

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