

**Інструкція до набору реагентів для визначення антитіл класу IgE до алергенів молока в сироватці (плазмі) крові людини, «Молочний профіль»**

Каталожний номер: **DP0101-25-E**

**СКЛАДОВІ ТЕСТ НАБОРУ**

| №п/п | Компонент комплекту                                                                    | Формат      | Символ                   |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------|
| 1.   | Тестові смужки, покриті алергенами: e204, f76, f77, f78, молоко козяче, f2             | 25 шт       | Тестові смужки           |
| 2.   | Позитивний контроль                                                                    | 1 x 300 мкл | Позитивний контроль      |
| 3.   | Негативний контроль                                                                    | 1 x 300 мкл | Позитивний контроль      |
| 4.   | Розчин детектора антитіл                                                               | 1x 12,5 мл  | Розчин детектора антитіл |
| 5.   | Кон'югат, мічений ферментом, 10 x концентрат (стрептавідин, мічений лужною фосфатазою) | 1 x 1,25 мл | Кон'югат 10x             |
| 6.   | Буфер TRIS-NaCl, 10x концентрат                                                        | 1x100 мл    | Буфер TRIS-NaCl 10x      |
| 7.   | Розчин 0,1 М TRIS-буфера                                                               | 1x10,5 мл   | Розчин 0,1 М TRIS-буфера |
| 8.   | Розчин BCIP                                                                            | 1 x 1 мл    | Розчин BCIP              |
| 9.   | Розчин NBT                                                                             | 1 x 1 мл    | Розчин NBT               |
| 10.  | Калібрувальна смужка                                                                   | 1 x 1 шт    | ----                     |
| 11.  | Інкубаційний лоток                                                                     | 5 x 5       | -----                    |
| 12.  | Інструкція                                                                             | 1 шт        |                          |
| 13.  | Протокол оцінки                                                                        | 3 шт        |                          |

**ЗАСТОСУВАННЯ**

Клініко-діагностичні дослідження в галузі алергодіагностики. Набір реагентів для визначення антитіл класу IgE до алергенів молока в сироватці (плазмі) крові людини, «Молочний профіль» призначений для напівкількісного виявлення антитіл людини класу E до харчових алергенів молока (бичачий сироватковий альбумін,  $\alpha$ -лактальбумін,  $\beta$ -лактоглобулін, казеїн, молоко козяче, молоко коров'яче) у сироватці або плазмі крові.

**ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ**

**Показання:** алергічні захворювання такі, як атопічний дерматит, кропив'янка, ангіоневротичний набряк, анафілаксія та анафілактичний шок, сироваткова хвороба, алергічний риніт, атопічна бронхіальна астма

**ЗБЕРІГАННЯ ТА СТІЙКІСТЬ**

Тестовий набір слід зберігати при температурі від 2°C до 8°C. Не заморожувати. Компоненти тестового набору стійкі до зазначеної дати кінцевого терміну придатності, при умові збереження цілісності упаковки виробника.

**УТИЛІЗАЦІЯ ВІДХОДІВ**

Зі зразками аналізів пацієнтів, контрольними зразками та інкубованими тестовими смужками слід поводитись, як з інфекційними відходами. Інші реактиви необов'язково розташовувати окремо, якщо інше не зазначено в офіційних інструкціях.

**ПРИНЦИП ТЕСТУ**

Тестовий комплект дозволяє провести напівкількісний аналіз in vitro антитіл людини класу IgE в сироватці або плазмі до харчових алергенів молока (бичачий сироватковий альбумін,  $\alpha$ -лактальбумін,  $\beta$ -лактоглобулін, казеїн, молоко козяче, молоко коров'яче). В тестовому комплекті знаходяться тест-стрічки, вкриті паралельними смугами цих 6 харчових алергенів молока. На першому етапі реакції тест-стрічки зволожуються, а потім інкубуються з сироваткою пацієнтів. Якщо зразки позитивні, специфічні антитіла IgE прикріпляються до алергенів. Щоб виявити зв'язані антитіла, другу інкубацію проводять з детектором антитіл після чого проводять третю інкубацію з використанням кон'югату міченого ферментом, який забезпечує кольорову реакцію.

**ЗАСТЕРЕЖЕННЯ**

- ТІЛЬКИ ДЛЯ ПРОФЕСІЙНОЇ IN VITRO ДІАГНОСТИКИ.

REF DP0101-25-E



ТОВ «ВИРОБНИЧА ФІРМА СІМЕСТА»  
65005, Україна, м. Одеса, вул. Мельницька, буд. 20А, тел.: +380(48)705 35 65



- Не використовувати набір після закінчення терміну придатності.
- Не їсти, не пити і не палити в місцях роботи із зразками та тест-системами.
- Поводитися зі зразками так, як ніби вони містять інфекційні агенти. Дотримуйтесь встановлених заходів безпеки стосовно мікробіологічних ризиків і виконуйте стандартні рекомендації по утилізації зразків.
- При роботі зі зразками використовуйте захисний одяг: халат, рукавички та окуляри.
- Усі використані тестові смужки, зразки і потенційно забруднені матеріали слід утилізувати згідно з вимогами чинного законодавства.

## СПОСІБ ВИКОРИСТАННЯ

### Підготовка та стабільність реактивів:

**Зверніть увагу-** за 30 хвилин перед використанням набору, всі реактиви слід довести до кімнатної температури (18-25°C). Реагенти мають бути ретельно перемішані перед використанням. Відтворюваність результатів сильно залежить від точності піпетування, часу інкубації, температури, рівномірності промивання тест-смужок. Слід ретельно дотримуватись процедури тестування. При проведенні тесту слід уникати потрапляння прямих сонячних променів. Після першого використання реактиви будуть стабільні до зазначеної дати кінцевого терміну придатності, при умові їх зберігання при температурі від 2 до 8°C і захищенні від забруднення.

**Покриті тестові смужки:** готові до використання. Відкривати упаковку с тестовими смужками лише після того, як смужки досягнуть кімнатної температури, щоб запобігти створенню на них конденсату. Після видалення смужок з упаковки, упаковку слід щільно закрити та зберігати при температурі від 2 до 8°C.

**Розчин детектору антитіл:** розчин біотинильованих антитіл проти імуноглобуліну Е людини, готовий до використання.

**Кон'югат мічений ферментом:** кон'югат мічений лужною фосфатазою, надається у 10-кратній концентрації. Для приготування готового до використання кон'юганту, слід взяти з пляшки необхідну кількість розчину, використовуючи чисту піпетку, і розвести у співвідношенні 1:10 робочим розчином TRIS-NaCl буферу. Для кожної стрічки розводьте 50 мкл кон'югату до 450 мкл однократного TRIS-NaCl буферу. Розведений кон'югат слід використати того ж робочого дня.

**Буфер TRIS-NaCl, 10x концентрат** – 10 mM трисовий буфер з ТВІНом постачається у 10-кратній концентрації. Для підготовки однократного розчину буфера слід взяти з пляшки необхідну кількість, використовуючи чисту піпетку, і розвести у співвідношенні 1:10 дистильованою водою (1 мл концентрату буферу : 9 мл води). Робочий однократний розчин буферу слід використати того ж робочого дня.

**Розчин субстрату** – готується перед застосуванням. Для приготування 500 мкл розчину субстрату візьміть 40 мкл розчину BCIP, додайте до нього 40 мкл розчину NBT та 420 мкл розчину 0,1 M TRIS-буфера. Приготовлений розчин субстрату має світло-жовтий колір. Розчин слід використати протягом 1 години.

### Підготовка та стабільність зразків:

**Матеріал зразків:** людська сироватка або плазма крові з ЕДТА, гепарином або цитратом.

**Стабільність:** досліджувані зразки пацієнтів можуть зберігатися при температурі від 2 до 8°C до 14 днів. Розведені зразки потрібно використати протягом одного робочого дня.

**Розведення зразків:** досліджувані зразки пацієнтів розводяться. Використовують 300 мкл сироватки людини та 200 мкл робочого розчину TRIS-NaCl буферу для одного аналізу. Загальний об'єм розведеної сироватки складає 500 мкл.

## ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

**Підготовка:** Пластина інкубаційного лотку складається з 5 каналів, які призначені для постановки 5 аналізів. Візьміть необхідну кількість каналів інкубаційного лотку з тестовими смужками з упаковки (якщо необхідно за один раз поставити менше 5 аналізів, пластину інкубаційного лотку можна розрізати використовуючи необхідну кількість каналів з тестовими смужками). Після видалення необхідної кількості каналів інкубаційного лотку з тестовими смужками з упаковки, упаковку слід щільно закрити та зберігати при температурі від 2 до 8°C. На першому етапі реакції тест-стрічки зволожуються додаванням 500 мкл робочого TRIS-NaCl буферу. Видаляють вологу з кожного каналу інкубаційного лотка.

**Інкубація: (1-й крок)** – заповніть кожен канал зразком розведеної сироватки в об'ємі 500 мкл (300 мкл сироватки та 200 мкл робочого розчину TRIS-NaCl буферу) та інкубуйте на вертикальному шейкері при кімнатній температурі впродовж 45 хвилин.

**Промивання** – видаліть вологу з кожного каналу інкубаційного лотка та промивайте на вертикальному шейкері при кімнатній температурі впродовж 3 хвилин, використовуючи 500 мкл робочого розчину TRIS-NaCl буферу. Повторіть процедуру 5 раз.

**Інкубація: (2-й крок)** – піпеткою додайте у кожен канал 500 мкл розчину детектора антитіл та інкубуйте впродовж 45 хвилин при кімнатній температурі на вертикальному шейкері.

**Промивання** – видаліть вологу з кожного каналу інкубаційного лотка та промивайте 3 хвилин, використовуючи 500 мкл робочого розчину TRIS-NaCl буферу. Повторіть процедуру 5 раз.

**Інкубація: (3-й крок)** – піпеткою додайте у кожен канал 500 мкл розведеного розчину кон'югату, та інкубуйте впродовж 20 хвилин при кімнатній температурі на вертикальному шейкері.

**Промивання** – видаліть вологу з кожного каналу інкубаційного лотка та промивайте 3 хвилин на вертикальному шейкері, використовуючи 500 мкл робочого розчину TRIS-NaCl буферу. Повторіть процедуру 5 раз.

**Інкубація (4-й крок)** – у кожен канал інкубаційного лотку піпеткою додайте 500 мкл розчину субстрату та інкубуйте впродовж 2 хвилин. при кімнатній температурі на вертикальному шейкері (до появи добре помітної контрольної та за наявності тестових смуг на тестовій стрічці).



**Закінчення:** видаліть вологу з кожного каналу інкубаційного лотка та промийте кожну смужку дистильованою водою впродовж 1 хвилини 3 рази на вертикальному шейкері.

### ОЦІНЮВАННЯ

Покладіть кожну смужку на оціночний протокол, висушіть та зробіть оцінку.

**Обробка:** розмістіть просушені блот-стрічки на оціночному протоколі та підрівняйте відповідно позначкам. Обережно промокніть стрічки абсорбуючим папером. Ще вологі інкубовані стрічки демонструють фонове зафарблення, яке зникає після повного висихання. Тому оцінювання стрічок слід проводити лише після того, як стрічки висохнуть повністю.

Для **візуального оцінювання** добре видимі смужки на просушених блот-стрічках, що співвідносяться з позначками на оціночній матриці, заносяться до оціночного протоколу.

**Зверніть увагу:** Зверху стрічки знаходиться контрольна смужка (КК), якщо вона чітко виражена, та інтенсивно забарвлена, то інкубація була проведена вірно. Деякі зразки можуть демонструвати темне фонове забарвлення мембрани та білі смужки в місцях антигенів. Ці неспецифічні реакції повинні тлумачитись, як негативні.

**Відсутність контрольної смужки вказує на невірне проведення інкубації. Інкубацію слід повторити з новими реактивами.**

### Інтерпретація результатів:

Для того, щоб оцінити результати, слід враховувати положення смужок та інтенсивність забарвлення. Алергени, проти яких присутні антитіла імуноглобуліну Е, можна визначити порівнянням інкубованих тест-стрічок з калібрувальною смужкою. Результати можуть бути поділені на 6 класів, відповідно до забарвлення смужок:

| Клас | Результат                                                                                                                                                                      | Характеристики            |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 0    | Негативний; не виявлено специфічних антитіл не має жодного клінічного значення                                                                                                 | немає забарвлення         |
| 1    | Дуже слабка концентрація антитіл, частіше без клінічних симптомів, низька концентрація алергену специфічного IgE; часткове клінічне значення                                   | слабо помітна смуга       |
| 2    | Слабка концентрація антитіл, частіше без клінічних симптомів, в той час як сенсibilізація присутня досить низька концентрація алергену специфічного IgE; має клінічне значення | виражена смуга            |
| 3    | Виявлений значний рівень антитіл, середня концентрація алергену специфічного IgE; часто з клінічними симптомами                                                                | чітко виражена смуга      |
| 4    | Виявлений високий рівень антитіл. Майже завжди з клінічними симптомами концентрація алергену вища середнього рівня специфічного IgE;                                           | інтенсивно виражена смуга |
| 5/6  | Дуже високий титр антитіл висока концентрація алергену специфічного IgE; клінічні симптоми в більшості випадків                                                                | дуже добре виражена смуга |

### Розташування антигенів на тестовій смужці

|  |                                      |
|--|--------------------------------------|
|  | КК                                   |
|  | e204 (бичачий сироватковий альбумін) |
|  | f76 (α-лактальбумін)                 |
|  | f77 (β-лактоглобулін)                |
|  | f78 (казеїн)                         |
|  | Молоко козяче                        |
|  | f2 (молоко коров'яче)                |
|  |                                      |

### ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**Діапазон виміру:** це напівкількісний метод. Ніякий діапазон виміру не надається.

### Чутливість та специфічність

Чутливість та специфічність тесту визначені за допомогою стандартів підприємства та в клінічних дослідженнях і становлять: чутливість 88 %; специфічність 95 % для здорових донорів крові.

**Внутрішньосерійна точність** була визначена на зразках стандартних позитивних сироваток. У всіх повторях інтенсивність забарвлення смуг була в межах зазначеного діапазону.

**Міжсерійна точність** була визначена за допомогою 15 незалежних аналізів на стандартних позитивних зразках. Три

різні партії наборів були протестовані, використовуючи ці зразки. Зразки були правильно ідентифіковані у випадках >99%.

| Маркування | Пояснення символів маркування   | Маркування | Пояснення символів маркування                                                                                         |
|------------|---------------------------------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IVD        | Тільки для діагностики in vitro |            | Адреса виробничих потужностей:<br>ТОВ «Виробнича фірма Сіместа»,<br>Україна, 65005, м. Одеса,<br>вул. Мельницька, 20А |



|                                                                                   |                                                    |                                                                                      |                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
|  | Зберігати при температурі 2-8°C<br>Не заморожувати |     | Тел./факс 066-400-38-55 |
|  | Використати до                                     | <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">LOT</div> | Код партії              |

#### ОБМЕЖЕННЯ

1. Відтворюваність результатів тесту залежить від точності техніки піпетування, належного дотримання рекомендованих умов (температури, часу) інкубації, належного промивання тестових смужок та приготування та зберігання реагентів.

2. Результати, отриманні з використанням тесту можуть бути використанні в якості додаткової інформації при діагностиці захворювання.

3. Цей тестовий набір є діагностичним засобом. Постановка клінічного діагнозу не може базуватися тільки на результатах тесту і повинна бути зроблена лікарем, після того як будуть оцінені всі клінічні та лабораторні данні.