IgE II

Иммуноглобулин E

cobas®

REF	Σ	SYSTEM
04827031 190	100	Elecsys 2010 MODULAR ANALYTICS E170 **cobas e** 411 **cobas e** 601 **cobas e** 602

Для США: Elecsys IgE II Immunoassay

Русский

Назначение

Иммуноанализ с целью in vitro количественного определения содержания иммуноглобулина E в человеческой сыворотке крови и плазме.

Определение общего содержания IgE может помочь при диагностике аллергических заболеваний.

Электро**х**еми**л**юминесцентный **и**ммуно**т**ест ECLIA предназначен для использования на иммунохимических анализаторах Elecsys и **cobas e**.

Теоретическое обоснование

Иммуноглобулин E (IgE) играет важную роль в иммунной защите от паразитических инфекций и в развитии аллергических реакций (гиперчувствительность 1 типа). Гиперчувствительность 1 типа характеризуется развитием аллергических реакций сразу же после контакта с вызывающим аллергию антигеном (аллергеном). Связывание аллергена с сенсибилизированными тучными клетками или базофилами ведет к перекрёстному связыванию IgE с клеточной мембраной. Это, в свою очередь, вызывает дегрануляцию клеток и высвобождение факторов (например, гистамина), которые провоцируют появление типичных симптомов гиперчувствительности 1 типа.

Концентрация IgE в сыворотке крови обычно очень низкая (< 0.001 % от общего сывороточного иммуноглобулина). Концентрация IgE зависит от возраста, самые низкие показатели наблюдаются при рождении. Его концентрация постепенно повышается и стабилизируется к 5-7 годам, однако значения IgE сильно различаются в конкретных возрастных группах.[1] У новорожденных и маленьких детей с рецидивирующими заболеваниями дыхательных путей определение IgE имеет большое значение для прогноза течения заболевания.[1,2]

IgE играет важную роль при аллергиях, повышенная концентрация IgE может наблюдаться у пациентов с такими аллергическими заболеваниями как сенная лихорадка, атопический бронхит и дерматит.[3,4] Однако нормальные показатели IgE не говорят о том, что аллергические заболевания можно исключить. По этой причине количественное определение концентрации IgE в сыворотке крови может быть использовано для клинической дифференциации между атопическими и неатопическими заболеваниями только в сочетании с другими количественными показателями.[1]

Повышенная концентрация IgE в сыворотке может также наблюдаться при неаллергических заболеваниях, например, при бронхолёгочном аспергиллезе,[5,6] синдроме Вискотта-Олдрича,[7] гипер-IgE синдром,[8] IgE-миеломе и паразитических инфекциях.[9]

В тест-системе Elecsys IgE II используются моноклональные антитела, специфично направленные против иммуноглобулина E человека.

Принцип метода

Принцип «сэндвича». Общая продолжительность анализа: 18 минут.

- 1-я инкубация: IgE в образце (10 мкл), биотинилированное моноклональное IgE-специфичное антитело и моноклональное IgE-специфичное антитело, меченое рутениевым комплексом[a)], вступают в реакцию с формированием сэндвич-комплекса.
- 2-я инкубация: После добавления микрочастиц, покрытых стрептавидином, образовавшийся комплекс связывается с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина.
- Реакционная смесь аспирируется в измерительную ячейку, где микрочастицы оседают на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия. Затем с помощью ProCell/ProCell M удаляются не связавшиеся вещества. После этого приложенное к электроду напряжение вызывает хемилюминесцентную эмиссию, которая измеряется фотоумножителем.
- Результаты определяются с помощью 2-точечной калибровочной кривой, полученной для данного инструмента, и референсной калибровочной кривой, данные которой сообщены в штрих-коде набора реагентов.

a) Трис(2,2'-бипиридил)рутений(II)-комплекс ($Ru(bpy)_3^{2+}$)

Реагенты - рабочие растворы

На упаковке с основными реагентами наклеена этикетка IGE II.

M Микрочастицы, покрытые стрептавидином (прозрачная крышка), 1 флакон, 6.5 мл:

Микрочастицы, покрытые стрептавидином, 0.72 мг/мл; консервант.

R1 Анти-IgE-антитело~биотин (серая крышка), 1 флакон, 10 мл:

Биотинилированные моноклональные анти-IgE-антитела (мыши) 2.5 мг/л; фосфатный буфер 85 ммоль/л, pH 6.5; консервант.

R2 Анти-IgE-антитело~$Ru(bpy)_3^{2+}$ (черная крышка), 1 флакон, 10 мл:

Моноклональные анти-IgE антитела (мыши), меченые рутениевым комплексом 5.5 мг/л; фосфатный буфер 85 ммоль/л, pH 6.5; консервант.

Меры предосторожности и предупреждения

Только для диагностики in vitro.
Соблюдайте обычные меры предосторожности, необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами.
Утилизация использованных материалов должна проводиться в соответствии с локальными правилами ликвидации отходов.
Паспорт безопасности материала предоставляется по запросу.

Для США: Отпускается только по рецепту.

Следует избегать образования пены для любых типов реагентов и проб (образцы, калибраторы и контроли).

Приготовление рабочего раствора реагента

Реагенты в наборе готовы к применению, поставляются в составе кассеты и не должны разделяться.

Необходимая для корректной работы информация считывается автоматически со штрих-кода реагента.

Хранение и стабильность

Хранить при 2-8 °C.

Не замораживать.

Хранить набор с реагентами Elecsys необходимо в **вертикальном** положении, чтобы гарантировать полную доступность микрочастиц в процессе автоматического перемешивания перед началом выполнения анализа.

Стабильность:	
в неоткрытом виде при 2-8 °C	До конца срока годности.
в открытом виде при 2-8 °C	12 недель
На борту анализатора	8 недель

Получение и подготовка образцов

В результате тестирования были признаны подходящими указанные ниже виды материалов для исследования.

Сбор сыворотки должен производиться с использованием стандартных пробирок для образцов или с помощью пробирок с разделяющим гелем.

Li-, Na-гепарин, K_3-ЭДТК плазма и плазма с цитратом натрия. При использовании цитрата натрия полученные значения должны быть скорректированы - увеличены на 10 %.

Критерий: Результаты измерений в пределах 90-110 % значений для сыворотки или угловой коэффициент в пределах 0.9-1.1 + смещение по оси ординат в пределах < ± 2x значения, соответствующих аналитической чувствительности (LDL) + коэффициент корреляции > 0.95.

Значения, полученные для плазмы с фторидом натрия или оксалатом калия, на 18 % ниже тех, которые были получены для сыворотки.

Стабильность сохраняется на протяжении 7 дней при 2-8 °C, 6 месяцев при -20 °C.[10] Замораживать образцы не больше 5 раз.

Указанные типы проб тестировались с применением пробирок для сбора образцов, которые можно было приобрести в торговой сети на момент проведения тестов, т. е. тестировались пробирки не всех производителей. В системах сбора образцов разных производителей используются различные материалы, которые в некоторых случаях могут искажать результаты тестирования. При обработке образцов в первичных пробирках (системах забора крови) следуйте указаниям инструкций производителя пробирок.

Пробы, содержащие осадок, необходимо центрифугировать перед выполнением исследования.

Не использовать образцы, инактивированные посредством тепловой обработки.

Не использовать образцы и контроли, стабилизированные с помощью азида.

Перед началом проведения исследования убедитесь в том, что температура образцов, калибраторов и контролей соответствует температуре окружающей среды (20-25 °C).

Ввиду возможного испарения образцы, калибраторы и контроли на борту анализатора должны быть исследованы в течение 2 часов.

Состав набора

См. раздел «Реагенты».

Необходимые (но не предоставляемые) материалы

- REF 11930427122, IgE CalSet, 4 x 1 мл
- REF 11731416190, Контрольная сыворотка PreciControl Universal, 2 фл. для 3 мл из PreciControl Universal 1 и 2 каждый
- REF 11731416160, Контрольная сыворотка PreciControl Universal, 2 фл. для 3 мл из PreciControl Universal 1 и 2 каждый (для США)
- REF 11732277122, Diluent Universal, 2 x 16 мл разбавителя для образцов или

  REF 03183971122, Diluent Universal, 2 x 36 мл разбавителя для образцов
- Общее лабораторное оборудование
- Анализаторы Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 или **cobas e**

Вспомогательные материалы для анализаторов Elecsys 2010 и **cobas e** 411:

- REF 11662988122, ProCell, 6 x 380 мл, системный буфер
- REF 11662970122, CleanCell, 6 x 380 мл, чистящий раствор для измерительной ячейки
- REF 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 мл, средство для добавления в дистиллированную воду
- REF 11933159001, Адаптер для SysClean
- REF 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 реакционных пробирок
- REF 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 наконечников для дозатора

Вспомогательные материалы для анализаторов MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 и **cobas e** 602:

- REF 04880340190, ProCell M, 2 x 2 л, системный буфер
- REF 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 л, чистящий раствор для измерительной ячейки
- REF 03023141001, PC/CC-Cups, 12 пробирок для предварительного нагревания ProCell M и CleanCell M перед использованием
- REF 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 мл, раствор для промывки на финальном этапе работы и при замене реактива
- REF 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 упаковок x 84 реакционных пробирок или наконечников для дозатора, мешки для отходов
- REF 03023150001, WasteLiner, мешки для отходов
- REF 03027651001, адаптер для SysClean M

Вспомогательные материалы для всех анализаторов:

- REF 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 мл, средство для промывки системы
- REF 11298500160, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 мл, средство для промывки системы (для США)

Анализ

Для получения оптимальных результатов исследования строго следуйте указаниям настоящей инструкции, применительно к используемому анализатору. Подробную информацию по работе с анализатором можно найти в соответствующем Руководстве пользователя.

Перемешивание микрочастиц перед использованием происходит автоматически. Необходимые для проведения теста параметры должны быть считаны со штрих-кода реагента. Если штрих-код не считывается, введите последовательность из 15 цифр вручную.

Доведите температуру охлажденных реагентов примерно до 20 °C и установите их на диск реагентов (20 °C) на борт анализатора. Избегайте образования пены. Система автоматически регулирует температуру реагентов и открывание/ закрывание флаконов.

Калибровка

Стандартизация: Данный метод стандартизирован относительно 2-го Международного Референсного Стандарта ВОЗ 75/502 IRP.

Каждая упаковка реагентов Elecsys содержит этикетки со штрих-кодом с информацией, специфичной для калибровки определенной серии реагентов. Предварительно полученная референсная калибровочная кривая адаптируется для анализатора с помощью набора калибраторов CalSet.

Интервал калибровки: Калибровка должна выполняться один раз для каждой серии с использованием нового реагента (т.е. находящегося на борту не более 24 часов после регистрации на анализаторе). Рекомендуется обновлять калибровку следующим образом:

- каждый месяц (28 дней) (при использовании одной серии реагента)
- каждые 7 дней (при использовании на анализаторе одного и того же набора реагентов)
- по требованию: например, когда контрольные результаты выходят за пределы установленного диапазона

Контроль качества

Для контроля качества может быть использован контроль PreciControl Universal.

Также можно использовать другие пригодные контрольные материалы.

Контроли для различных диапазонов концентраций должны проводиться как одиночные определения минимум один раз каждые 24 часа при использовании теста, один раз для каждого набора реагентов и после каждой калибровки.

Контрольные интервалы должны быть адаптированы в соответствии с требованиями конкретной лаборатории. При этом полученные величины должны находиться в пределах допустимых отклонений. Каждая лаборатория должна выработать правила, позволяющие принять корректирующие меры в случае, если значения выходят за установленные пределы.

Соблюдайте все действующие федеральные и местные нормативные акты, касающиеся вопросов контроля качества.

Расчет

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию аналита в каждой пробе (в МЕ/мл или нг/мл).

Коэффициенты пересчета: МЕ/мл x 2.40 = нг/мл
нг/мл x 0.42 = МЕ/мл

Ограничения – интерференция

На результаты анализа не влияет иктеричность (билирубин < 633 мкмоль/л или < 37 мг/дл), гемолиз (Hb < 0.062 ммоль/л или < 0.1 г/дл; не проводите анализ образцов с видимыми признаками гемолиза), липемия (триглицериды < 30.8 ммоль/л или < 2200 мг/дл) и биотин (< 409 нмоль/л или < 100 нг/мл).

Критерий: Результат в пределах ± 10 % от исходного значения.

У пациентов, получающих лечение высокими дозами биотина (> 5 мг/день), следует брать пробы не раньше чем через 8 (восемь) часов после последнего введения биотина.

Влияния ревматоидных факторов в концентрации до 6000 МЕ/мл обнаружено не было (метод сравнения: тест Elecsys IgE и доступный на рынке тест на IgE были использованы при исследовании 50 образцов).

Хук-эффекта высокой дозировки не наблюдалось при концентрациях до 50000 МЕ/мл (120000 нг/мл).

In vitro протестировано 37 широко применяемых фармакологических препаратов. Влияние наблюдалось в образцах пациентов, обработанных Ксолар (омализумаб). Не используйте образцы, полученные от пациентов, принимающих Ксолар (омализумаб) или подобные препараты, содержащие анти-тела IgE.

В редких случаях возможна интерференция из-за чрезвычайно высокого титра антител к аналит-специфичным антителам, стрептавидину или рутению. Состав тест-системы позволяет свести к минимуму эти эффекты.

Оценка полученных результатов исследования в диагностических целях должна проводиться с учетом истории болезни пациента, результатов клинического обследования и других данных.

Пределы и диапазоны измерений

Диапазон измерений

0.100-2500 МЕ/мл или 0.240-6000 нг/мл (определяется по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению референсной калибровочной кривой). Значения ниже предела обнаружения определяются как < 0.100 МЕ/мл или < 0.240 нг/мл. Значения выше диапазона измерений определяются как > 2500 МЕ/мл или > 6000 нг/мл (либо до 50000 МЕ/мл или 120000 нг/мл для образцов с 20-ти кратным разведением).

Нижние пределы измерения

Нижний предел обнаружения теста

Нижний предел обнаружения: 0.100 МЕ/мл (0.240 нг/мл)

Нижний предел обнаружения представляет собой наименьший измеряемый уровень аналита, который можно отличить от нуля. Он рассчитывается как концентрация, превышающая на два стандартных отклонения результат измерения самого низкого стандарта (мастер калибратор, стандарт 1 + 2 SD, повторяемость n = 21).

Разведение

Образцы с концентрацией IgE антител выше диапазона измерений можно развести с использованием разбавителя Diluent Universal. Рекомендуется разведение в соотношении 1:20 (в автоматическом режиме на анализаторах MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и **cobas e** или вручную). Концентрация в разведенном образце должна составлять > 125 МЕ/мл (> 300 нг/мл).

После ручного разведения необходимо умножить полученный результат на коэффициент разведения.

После разведения на анализаторе программное обеспечение MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 и **cobas e** автоматически учитывает разведение в процессе вычисления концентрации образца.

Ожидаемые значения

Концентрация IgE у здоровых пациентов, не страдающих атопическими заболеваниями, сильно зависит от возраста. Самые низкие показатели наблюдаются у новорожденных. Нормальные показатели достигают максимума в возрастной группе 9-13 лет и снова снижаются в зрелом возрасте.[11,12,13] Рекомендуемые предельные величины:[13]

Возрастная группа	МЕ/мл	нг/мл
Младенцы	1.5	3.6
Дети до года	15	36
Дети 1-5 лет	60	144
Дети 6-9 лет	90	216
Дети 10-15 лет	200	480
Взрослые	100	240

Каждая лаборатория должна исследовать применимость ожидаемых значений к популяции своего региона и при необходимости определить диапазон референсных значений.

Технические характеристики

Технические характеристики теста на анализаторах представлены ниже. Результаты, полученные в отдельных лабораториях, могут отличаться.

Воспроизводимость (прецизионность)

Прецизионность определяли с применением реагентов Elecsys, пулов сыворотки крови человека и контролей согласно протоколу (EP5-A) Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI): 6 серий ежедневно на протяжении 10 дней (n = 60); повторяемость на анализаторе MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Были получены следующие результаты:

Анализаторы Elecsys 2010 и **cobas e** 411					
			Воспроизводимость		
Образец	Среднее значение		SD		CV
	МЕ/мл	нг/мл	МЕ/мл	нг/мл	%
Человеческая сыворотка 1	32.7	78.5	1.3	3.12	4.1
Человеческая сыворотка 2	265	636	6.3	15.1	2.4
Человеческая сыворотка 3	1295	3108	34	81.6	2.6
PreciControl U[b)]1	82.3	198	1.6	3.84	2.0
PreciControl U2	340	815	7.7	18.5	2.3

b) U = Universal

Анализаторы Elecsys 2010 и **cobas e** 411					
			Внутрилабораторная прецезионность		
Образец	Среднее значение		SD		CV
	МЕ/мл	нг/мл	МЕ/мл	нг/мл	%
Человеческая сыворотка 1	32.7	78.5	1.7	4.1	5.1
Человеческая сыворотка 2	265	636	10	24	3.8
Человеческая сыворотка 3	1295	3108	50.4	121	3.9
PreciControl U1	82.3	198	3.1	7.4	3.7
PreciControl U2	340	815	13.4	32.2	4.0

Для анализаторов MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 и **cobas e** 602					
	Воспроизводимость				
Образец	Среднее значение		SD		CV
	МЕ/мл	нг/мл	МЕ/мл	нг/мл	%
Человеческая сыворотка 1	4.4	10.6	0.06	0.14	1.4
Человеческая сыворотка 2	261	628	1.92	4.61	0.7
Человеческая сыворотка 3	1018	2444	9.71	23.3	1.0
PreciControl U1	78.1	188	0.49	1.18	0.6
PreciControl U2	340	817	2.4	5.76	0.7

Для анализаторов MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 и **cobas e** 602					
	Внутрилабораторная прецезионность				
Образец	Среднее значение		SD		CV
	МЕ/мл	нг/мл	МЕ/мл	нг/мл	%
Человеческая сыворотка 1	30.2	72.5	0.83	1.99	2.7
Человеческая сыворотка 2	245	588	6.88	16.5	2.8
Человеческая сыворотка 3	1207	2899	41.3	99.1	3.4
PreciControl U1	78.1	187	2.8	6.7	3.6
PreciControl U2	328	787	11.5	27.6	3.6

Сравнение методов

При сопоставлении теста Elecsys IgE II (y) и метода Elecsys IgE (x) с использованием клинических образцов были получены следующие корреляции (МЕ/мл):

Количество исследованных образцов: 72

Регрессия по Пассингу/Баблоку[14]	Линейная регрессия
y = 0.93x + 0.14	y = 0.95x - 2.35
r = 0.985	r = 0.998

Уровень концентрации в образцах от 3 до 1755 МЕ/мл (от 7.2 до 4212 нг/мл).

Аналитическая специфичность

Использованные моноклональные антитела обладают высокой специфичностью в отношении иммуноглобулина E.

Перекрёстная реактивность с иммуноглобулинами G, A и M была неопределяемой.

Функциональная чувствительность

0.500 МЕ/мл (1.20 нг/мл)

Функциональная чувствительность — это самая низкая концентрация аналита, которую можно измерить с межсерийной воспроизводимостью CV < 20 %.

Список литературы

1 Homburger HA. The Laboratory Evaluation of Allergic Diseases: Part I: Measurement Methods for IgE Protein. Lab med 1991;22:780-782.

2 Johansson SGO. In vitro Diagnosis of Reagin-Mediated Allergic Diseases. Allergy 1978;33:292-298.

3 Burrows B, Martinez FD, Halonen M, et al. Association of Asthma with Serum IgE Levels and Skin-Test Reactivity to allergens. N Engl J Med 1989;320:271-277.

4 Loeffler J, Cawley LP, Moeder M. Serum IgE levels: Correlation with skin test sensitivity. Ann Allergy 1973;31:331-336.

5 Greenberger P, Patterson R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and the evaluation of the patient with asthma.

6 Patterson R, et al. Serum Immunoglobulin E in pulmonary allergic aspergillosis. J All Clin Immunol 1972;49(2):98-99.

7 Waldman TA, Polmar SH, Ballestra ST, et al. Immunoglobulin E in immunologic deficiency diseases. II. Serum IgE Concentration of Patients with Acquired Hypogammaglobulinemia, Thymoma and Hypogammaglobulinemia, Myotonic Dystrophy, Intestinal Lymphangiectasia and Wiskott-Aldrich Syndrome. J Immunol 1972;109(2):304-310.

8 Geha R, Reinherz E, Leung D, et al. Deficiency of Suppressor T Cells in the Hyperimmunoglobulin E Syndrome. J Clin Invest 1981;68:783-791.

9 Kojima S, Yokogava M, Tada T. Raised Levels of Serum IgE in Human Helminthiases. Am J Trop Med Hyg 1972;21(6):913-917.

10 Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of Analytes; Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT-Verlag, Darmstadt 1996:16-17. ISBN 3-928865-22-6.

11 Kjellman NIM, Johansson SGO, Roth A. Serum IgE levels in healthy children quantified by a sandwich technique (PRIST). Clin All 1976;6:51-59.

12 Ringel KP, Dati F, Buchholz E. IgE-Normalwerte bei Kindern. Laboratoriumsblätter 1982;32:26-34.

13 Dati F, Ringel KP. Reference values for serum IgE in healthy non-atopic children and adults. Clin Chem 1982;28(7):1556.

14 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Для более подробной информации обращайтесь к Руководству оператора соответствующих анализаторов и инструкциям ко всем необходимым компонентам, используемым в работе.

Точка в данной инструкции всегда используется для разделения десятичных разрядов, чтобы отметить границу между целыми и дробными частями десятичного числа. Разделители для групп разрядов не используются.

Символы

Roche Diagnostics использует следующие символы и знаки в дополнение к указанным в стандарте ISO 15223-1.

CONTENT	Состав набора
SYSTEM	Анализаторы/Приборы, для которых предназначен данный набор реагентов
REAGENT	Реагент
CALIBRATOR	Калибратор
→	Объем после восстановления или смешивания
GTIN	Номер в системе международной торговли

Дополнения, удаления или изменения отображаются на индикаторе изменений в полях.

© 2015, Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, Сандхофер Штрассе 116, D-68305, Мангейм
www.roche.com

Торговый представитель в США:
Roche Diagnostics, Индианаполис, Индиана
Техническая поддержка клиентов в США: 1-800-428-2336