



CAST® ELISA

Durchführung

EK-CAST

A Commitment to Diagnostics

Präanalytik

- Probenmaterial EDTA Blut
200 µl EDTA Blut/Ansatz
Minimum: 2 ml
Abnahmevolumen
- Probenlagerung bei 2-8°C bis zu 24 Stunden; nicht einfrieren!
- Probengewinnung Blutabnahme vor dem Haut- oder Provokationstest
- Medikamenteninterferenz Eine Behandlung mit Medikamenten wie z.B. Antihistaminen, Corticosteroiden oder Chromoglycinsäure sollte 3-7 Tage vor der Probenahme abgesetzt werden

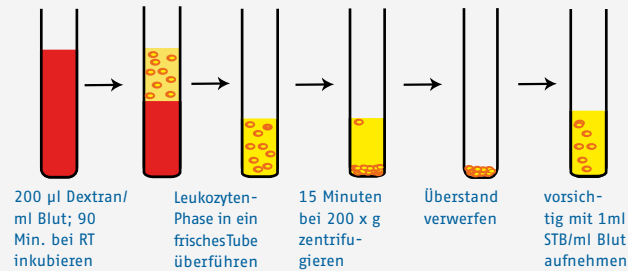
Spezielle Ausrüstung

- Wasserbad (37° C)

BÜHLMANN Allergene

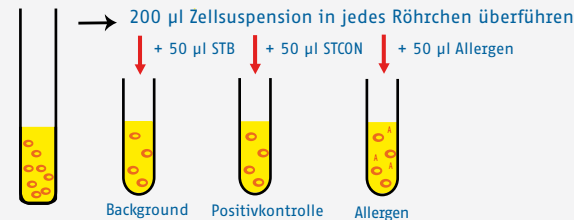
- Lösen Sie die Allergene mit 250 µl Stimulationspuffer
- Mit einem Fläschchen Allergen können bis zu 4 Stimulationen durchgeführt werden
- Allgemeinen zur Stimulation frisch aufgelöste Allergene verwenden
- Aufgelöstes Bienen/Wespengift Allergen (BAG2-I1 & BAG2-I3) ist für 1 Monat stabil bei - 20° C

Isolation



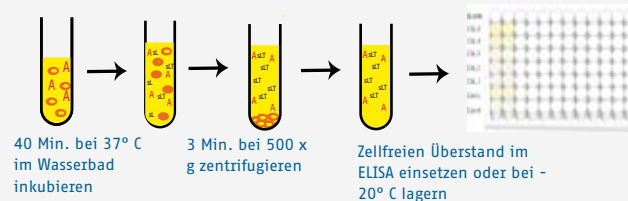
2 Std.

Stimulations Protokoll



20 Min.

Stimulation



40 Min.

3 Std.

Time to Result:

ELISA

Alle Reagenzien müssen auf RT äquiliibriert werden

Beschichtete Mikrotiter Platte

↓ ↻ 1x waschen

100 µl Standards, Kontrollen oder Zellüberstände

50 µl Enzymkonjugat zugeben

50 µl Antikörper zugeben

2 Std. ↓ ↻ 2 Stunden bei 18-28° C* auf einem Horizontalschüttler inkubieren
3 x waschen

200 µl TMB Substrat zugeben

0.5 Std. ↓ ↻ 15 Min. bei 18-28° C auf einem Horizontalschüttler inkubieren

50 µl Stopplösung zugeben

→ Bei 405 nm auswerten

*Alternativ: 16-20 Stunden bei 2-8° C

~2.5 Std.

~5.5 Std.





CAST® ELISA

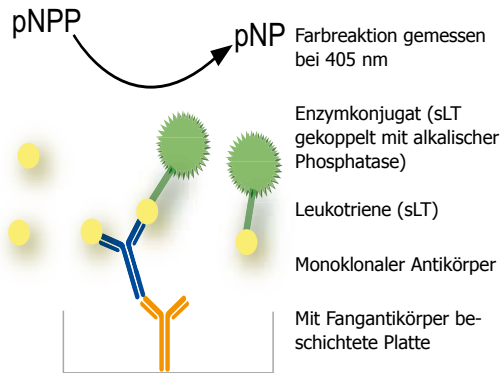
Charakteristika

EK-CAST

A Commitment to Diagnostics

Anwendung

Quantitative *in vitro* Bestimmung von de novo synthetisierten Sulfidoleukotrienen nach Stimulation mit spezifischen Antigenen mittels kompetitivem Immunoassay.



Anzahl der Patienten / Platte

1 Standardkurven (1/1 Platte)

- 1 Allergene/1 Konz. 13 Patienten
- 2 Allergene/1 Konz. 10 Patienten
- 3 Allergene/2 Konz. 6 Patienten

2 Standardkurven (1/2 Platte)

- 2 Allergene/ 1 Konz. 8 Patienten

Assay Charakteristika

Intra-Assay Präzision 4.6 %

n=6; Bereich: 54-1752 pg/ml
24 Doppelbestimmungen; CV Bereich: 3.0-7.3 %

Inter-Assay Präzision 15.4 %

n=7; Bereich: 90-2189 pg/ml
20 Wiederholungen; CV Bereich: 13-21%

Verdünnungslinearität 114 %

n=3; verdünnt 1:1 up to 1:16
Bereich der Wiederfindung: 101-129%

Spiking 99.5 %

n=3; aufgestockt mit Leukotrienen; Bereich der Wiederfindung: 82.9-108.9%

Analytische Sensitivität 19 pg/ml

n=20, in Doppelbestimmung; Mittelwert + 2 SD

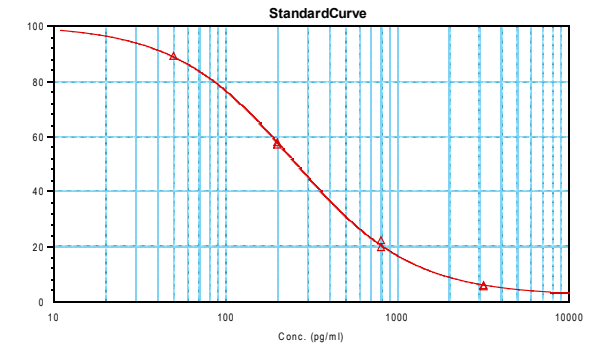
Standardkurvenbereich 50-3200 pg/ml

Berechnung der Stimulationsausbeute

Probe	Stimulation sLT [pg/ml]	Ausbeute sLT* [pg/ml]	
Patienten Background	55		
Stimulationskontrolle	1800	1745	
Bienen Allergen BAG2-I1	1000	945	POS
Wespen Allergen BAG2-I3	200	145	NEG

* Ausbeute sLT= Allergen [pg/ml] - Background [pg/ml]
= Nettostimulation

Typische Standardkurve (4 Parameter Logistics)



Cut off

- Inhalations / Lebensmittel Allergene 200 pg/ml
- Medikamente / Chemikalien Allergen spezifisch*
- Biene & Wespe (klinischer Cut-off) 270 pg/ml

* siehe Datenblatt für spezifische Allergene auf www.buhlmannlabs.ch

Bestellnummer:
EK-CAST 192 wells
EK-CAST5 480 wells



BÜHLMANN Laboratories AG
Germany/Switzerland
info@buhlmannlabs.ch
www.buhlmannlabs.ch
Phone +41 61 487 1212

BÜHLMANN in Austria GmbH
Austria
info@buhlmannlabs.at
www.buhlmannlabs.at
Phone +43 662 64 01 05