



Набор ИФА для количественного определения ферритина в человеческой сыворотке и плазме

Кат. № : EIA-4408
Количество : 96
Производитель : DRG (Германия)

Методика от 09-2012
Версия 4.0

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор является иммуноферментным колориметрическим методом для количественного определения концентрации ферритина в сыворотке и плазме.

2. КЛИНИЧЕСКИЕ ЗНАЧЕНИЕ

(См. в оригинале инструкции)

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Данный набор основывается на одновременном закреплении человеческого ферритина на двух моноклональных антителах, одно фиксируется на микролунках планшета, другое конъюгируется с пероксидазой хрена (HRP).

После инкубации путем простой промывки твердой фазы происходит связанное/свободное разделение, и затем добавляется раствор ТМБ-субстрата. После истечения необходимого времени для максимального развития цвета, ферментная реакция останавливается и измеряются абсорбции.

Концентрация ферритина в образце рассчитывается на основании ряда стандартов.

Интенсивность цвета пропорциональна концентрации ферритина в образце.

4. РЕАГЕНТЫ, МАТЕРИАЛЫ и ИНСТРУМЕНТЫ

4.1 Поставляемые с набором реагенты и материалы

- Нулевой стандарт S0: (1 флакон) 3 мл и стандарты ферритина S1-S5, 5x (1 флакон = 1 мл)
- Контроль (1 флакон = 1мл)
- Ферментный конъюгат (1 бутылка) 12 мл. Анти-ферритин-HRP конъюгат.
- Покрытый микропланшет (1 микропланшет, делимый). Антитела IgG к ферриту, нанесенные на микропланшет.
- Раствор субстрата ТМБ (1 бутылка), 15 мл.
H₂O₂-ТМБ 0,26 г/л (избегайте любого контакта с кожей).
- Стоп-раствор (1 бутылка), 15 мл.
Серная кислота 0,15 моль/л (избегайте любого контакта с кожей).
- Концентрат промывочного раствора (1 бутылка) 50 мл.
NaCl 9 г/л; Твин-20 22г/л.

4.2 Требуемые, но не поставляемые с набором реагенты

Дистиллированная вода.

4.3 Дополнительные материалы и инструменты

- Автоматический дозатор.
- Микропланшетный считыватель.

Примечание

Храните все реагенты между +2 - 8°C в темноте.
Открывайте мешочек реагента 3 (покрытый микропланшет) только при комнатной температуре и закрывайте немедленно после использования.

Не удаляйте липкую пленку с неиспользованных полосок.
После вскрытия набор стабилен до окончания срока годности.

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

- Реагент 3 содержит Проклин 300 в качестве консерванта.
- Стандарты и реагент 2 содержат гентамицин в качестве стабилизатора.
- Не используйте высоко гемолизированные образцы.
- Для реобавления и распределения реагентов требуется максимальная точность.

- Данный метод позволяет определять ферритин в пределах от 5,0 до 1000 нг/мл.
- Избегать влияния прямого солнечного света, металлов и оксидантов на ТМБ/H₂O₂.

6. ПРОЦЕДУРА

6.1 Подготовка стандарта (S0-S5)

Откалиброванные стандарты (относительно IS Ferritin ВОЗ 80/602) имеют проблиз. следующие концентрации: 0; 5; 20; 100; 400; 1000 нг/мл.

При концентрации образца более 1000 нг/мл разбавьте его нулевым стандартом.

После вскрытия стандарты стабильны в течении 6 месяцев при +4°C. Обращайтесь с образцами пациентов как с потенциально инфекционно опасными, используя такие защитные средства как лабораторные халаты и одноразовые перчатки.

6.2 Подготовка промывочного раствора

Разбавьте содержимое концентрированного промывочного раствора дистиллированной водой до объема в 1 л.

После разбавления раствор стабилен при 2-8°C до истечения срока годности набора.

6.3 Подготовка образца

Могут быть использованы сыворотка и плазма (гепариновая, ЭДТА). Не наблюдалось влияния ревматоидного фактора, билирбина, гемоглобина, триглицеридов и холестерина.

Образцы могут храниться при 2-8°C максимально до 5 дней. При более длительном хранении образцы необходимо заморозить. Избегайте повторных замораживаний-размораживаний.

7. ПРОЦЕДУРА

Поскольку необходимо провести определение в двух экземплярах, приготовьте две лунки для каждой из 6 точек стандартной кривой (S0-S5), два лунки для каждого образца, одну для бланка.

Внесите:

	Стандарт	Образец	Бланк
Образец/контроль	---	20 мкл	---
Стандарты S0-S4	20 мкл	---	---
Разбавл. конъюгат	100 мкл	100 мкл	---

Инкубировать при комнатной температуре в течение 1 часа.

Удалить содержимое каждой лунки; промойте лунки 300 мкл разбавленного промывочного раствора. Повторите процедуру промывки 2 раза, полностью осушив воду.

Внесите:

	Стандарт	Образец	Бланк
ТМБ-субстрата	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Инкубировать при комнатной температуре (25-28°C) в течение 10 минут в темноте.

Внесите:

	Стандарт	Образец	Бланк
Стоп раствор	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считайте абсорбцию (E) при 450 нм по отношению к бланку.

9. РЕЗУЛЬТАТЫ

Средняя абсорбция

Вычислить среднее значение абсорбций (Em) по отношению к отдельным точкам на калибровочной кривой и для каждого образца.

Калибровочная кривая

Выведите калибровочную кривую на логарифмической бумаге, составляя график значений абсорбции стандарта против соответствующей концентрации ферритина.

Расчет результатов

Интерполируйте значения образцов на калибровочную кривую, чтобы получить соответствующие значения концентраций в нг/мл.

10. РЕФЕРЕНТНОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Значения сыворотки или плазмы находятся в следующих пределах:

	Среднее (нг/мл)	Диапазон (нг/мл)
Женщины перед менопаузой	53	6-180
Женщины после менопаузы	105	8-350
Мужчины	175	20-400

11. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

11.1 Точность

Точность в анализе

Составляет 5,4%.

Точность между анализами

Составляет 6,1%.

11.2 Специфичность

Перекрестная реактивность покрытого микропланшета была вычислена при 50% на принципом Абрахама и указана в таблице:

Изо-ферритин печени	100 %
Изо-ферритин селезенки	80%
Изо-ферритин сердца	12%

11.3 Достоверность

Восстановление 12,5 – 25 – 50 – 100 – 200 – нг/мл ферритина, добавленного к образцу, дало среднее значение (\pm СО) 98,66% \pm 2,90%.

11.4 Чувствительность

Самая низкая обнаруживаемая данным анализом концентрация человеческого ферритина составила 1,0 нг/мл при доверительном интервале 95%.

11.5 Корреляция с РИА

Набор ИФА ферритина был сравнен с другим имеющимся на рынке анализом. Исследовались в обоих анализах 22 образца сыворотки женщин и 32 мужчин.

Кривая линейной регрессии была рассчитана следующим образом:

$$y = 1,11 \times 10,46$$

$$(r^2 = 0,972)$$

11.6 «Хук-эффект» высокой дозы

Настояний набор не демонстрирует «хук-эффекта» до 50,000 нг/мл.

12. Требования по утилизации

Реагенты должны утилизироваться в соответствии с метным законодательством.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

