

НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЕАЛЬБУМИНА/ТРАНСТИРЕТИНА

K6331, Prealbumin/Transthyretin ELISA

Каталог. № : K 6331

Методика от 27-02-2012

Количество : 96

Производитель: **Immundiagnostik AG (Германия)**



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Только для использования в *in-vitro* диагностике

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Данный анализ предназначен для количественного определения Преальбумина/Транстиретина в образцах сыворотки, плазмы, мочи и стула. Только для диагностики In-Vitro.

2. ВВЕДЕНИЕ

(материал будет доступен скоро)

3. ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА

Этот иммуноферментный анализ (ИФА) представляет собой двухшаговый анализ для сверхчувствительного определения человеческого преальбумина (транстиретина) в сыворотке, плазме, моче и кале.

Стандарты, контроли и образцы, содержащие человеческий преальбумин (транстиретин), добавляют в лунки микропланшета, который покрыт поликлональными анти-человеческими антителами преальбумина. Антитела, иммобилизованные на стенках лунок, захватывают преальбумин в образцах пациентов во время первой стадии инкубации. После вымывания несвязанных компонентов, антитело конъюгированного с пероксидазой анти-преальбумина добавляется в каждую лунку. Во время второй инкубации антитело обнаружения связывается с захваченным преальбумином. Формируется "Сэндвич" захваченное антитело-человеческий преальбумин-конъюгат пероксидазы. Тетраметилбензидин (ТМБ) используется в качестве субстрата пероксидазы. Наконец, кислый раствор для остановки реакции добавляется. Интенсивность желтого окрашивания прямо пропорциональна концентрации преальбумина образца. Стандартная кривая строится с использованием значений, полученных из стандартов. Преальбумин, присутствующий в образцах пациента, определяется непосредственно из этой кривой.

4. ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Кат. №	Содержание	Компоненты набора	Кол-во
K6331MTP	PLATE	Один держатель с предварительно покрытыми полосками	12 x 8 лунок
K6331WP	WASHBUF	Концентрат Промывочного буфера (10x)	2 x 100 мл
K6331K	CONJ	Конъюгат	1 x 50 мкл
K6331VP	CONJBUF	Конъюгат буфера для разведения	1 x 15 мл
K6331ST	STD	Калибраторы, лиофилизированные (0; 1.6; 6.25; 25; 100 нг/мл)	4 x 5 флаконов
K6331KO1	CTRL	Контроль, лиофилизированный	4 x 1 флакон
K6331KO2	CTRL	Контроль, лиофилизированный	4 x 1 флакон
K6331TMB	SUB	Субстрат ТМБ	1 x 15 мл
K6331AC	STOP	Стоп раствор, готов к использованию	1 x 15 мл
K6331PV	SAMPLEBUF	Буфер для разведения образца	2 x 100 мл

5. ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Бидистиллированная вода (аква-бидистиллированная)
- Лабораторный баланс
- Прецизионные пипетки и одноразовые наконечники 5-1000 мкл
- Фольга для накрывания планшета
- Горизонтальная мешалка
- Многоканальный дозатор или повторный дозатор
- Центрифуга со способностью 3000 x g

- Мешалка Vortex
- Стандартные лабораторные стеклянные или пластиковые флаконы, пробирки и т.д.
- Микропланшетный ридер при 540 нм

6. ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

- Для выполнения анализа более одного раза, убедитесь, что реагенты хранятся в условиях, указанных на этикетке. **Подготовьте только соответствующее количество, необходимое для каждого анализа.** Комплект может использоваться до 4 раз в течение срока годности, указанного на этикетке.
- Реагенты с объемом менее **100 мкл** следует центрифугировать перед использованием, чтобы избежать потери объема.
- **WASHBUF** (концентрат промывочного буфера) следует разбавить бидистиллированной водой **1:10** перед использованием (50 мл WASHBUF + 450 мл бидистиллированной воды), хорошо перемешать. Кристаллы могут возникнуть из-за высокой концентрации солей в растворах. Кристаллы необходимо растворить при 37 °C на водяной бане до разбавления Буферными растворами. **WASHBUF** (концентрат промывочного буфера) стабилен при 2-8 °C до окончания срока годности, указанного на этикетке. Разводненный **буферный раствор** может храниться в закрытой колбе при температуре **2-8 °C в течение одного месяца**.
- Лيوфилизированные **STD** (стандарты) и **CTRL** (контроли) должны быть восстановлены с **500 мкл** бидистиллированной воды. Оставить флакон на 10 минут для растворения его содержимого и тщательно перемешать, аккуратно переворачивая, до полного растворения. Лيوфилизированные **STD** (стандарты) и **CTRL** (контроли) остаются стабильными при температуре **2-8 °C** до срока годности, указанного на этикетке. Восстановленные стандарты и контроли не стабильны.
- **CONJ** (конъюгат) растворить **1:500** в буфере разбавления конъюгата (**CONJBUF**) (20 мкл CONJ + 10 мл CONJBUF). Неразбавленный **CONJ** (конъюгат) стабилен при температуре **2-8 °C** до окончания срока годности, указанного на этикетке. **Разведенный конъюгат не является стабильным и не может быть оставлен на хранение.**
- Все другие реагенты теста готовы к использованию. Тестовые реагенты стабильны до окончания срока годности (см. этикетку тестового пакета) при температуре **2-8 °C**.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для использования в In-Vitro диагностике.
- Руководящие принципы контроля качества должны быть соблюдены.
- Человеческие материалы, используемые в компонентах набора, были испытаны и признаны отрицательными к ВИЧ, гепатиту В и гепатиту С. Тем не менее, по соображениям безопасности, все компоненты набора должны рассматриваться как потенциально инфицированные.
- В состав реагентов входит азид натрия или тимеросал в качестве бактерицидного средства. Натрий азид и тимеросал являются токсичными. Субстраты для ферментативных цветовых реакций токсичны и канцерогенны. Избегать попадания на кожу или слизистые оболочки.
- Стоп раствор состоит из серной кислоты, которая является сильной кислотой. Даже с разбавленным, с ним необходимо обращаться с осторожностью. Он может вызвать химические ожоги; использовать перчатки, защитные очки, и соответствующие защитные одежды. Любое разливание должно быть немедленно устранено с большим количеством воды.

8. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Фекалии

- Внести около 100 мг образца (запишите вес образца для расчетов) в 5 мл Промывочного буфера и перемешать.
- Центрифугировать раствор образца в течение 10 минут при 3000 об/мин.
- Поместить 1 мл супернатанта в пробирку Эппендорфа и центрифугировать ещё раз при 13.000 об/минуту в течение 5 минут.
- Развести супернатант **1:40** буфером для промывки (25 мкл супернатанта + 975 мкл промывочного буфера). Используйте 100 мкл раствора для эксперимента.
- Мы рекомендуем взвешивание свежих образцов стула для каждого запуска. Супернатант не стабилен, и не может быть оставлен на хранение.
- Образцы кала могут храниться при температуре -20 °C в течение 4 недель. Повторное замораживание и оттаивание не рекомендуется.

- Immundiagnostik рекомендует использовать пробирки от фирмы Roche Diagnostics/Мангейм (№ 745804) для пробоподготовки.
- **Примечание:** Мы рекомендуем провести определение оптимального разбавления образца (1:500-1:5.000) в предварительном эксперименте.

Образцы сыворотки/плазмы

Свеже собранная кровь должна быть центрифугирована в течение одного часа. Хранить образцы при -20 °С, если они не будут анализироваться в тот же день. Липемические или гемолитические образцы могут давать ошибочные результаты. Образцы должны быть хорошо перемешаны перед исследованием. Мы рекомендуем дублировать анализы для каждого образца. Нормальные образцы разводятся **1:20,000**.

Разбавление 1:20,000

Разбавление может быть выполнено в три этапа. Например:

1. 50 мкл сыворотки/плазмы + 950 мкл буфера для разбавления образцов, хорошо перемешать;
2. из 1-го разбавления 100 мкл + 900 мкл буфера для разбавления образцов, хорошо перемешать;
3. из 2-го разбавления 10 мкл + 990 мкл буфера для разбавления образцов, хорошо перемешать (разведение **1:20,000**)

Для анализа пипетировать в каждую лунку по **100 мкл конечной стадии разбавления**.

Примечание: Мы рекомендуем провести определение оптимального разбавления образца (1:10,000 - 1:30,000) в предварительном эксперименте.

Используйте соответствующий коэффициент разбавления для расчета концентрации.

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Примечания к методике

- Не использовать компоненты из разных партий в пределах одного анализа.
- Реагенты не следует использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Руководящие принципы для медицинских лабораторий должны быть соблюдены.
- Время инкубации, температура инкубации и пипетируемые объемы компонентов определяются производителем. Любое изменение процедуры испытаний, которое не согласовано с производителем, может повлиять на результаты теста. Immundiagnostik AG, следовательно, не может нести ответственность за любой ущерб в результате неправильного использования.
- Раствор субстрата должен оставаться бесцветным до использования.
- Для обеспечения точности результатов, необходима хорошая герметика пластины во время инкубации. Избегать образования пены при смешивании реагентов.
- Анализ всегда следует выполнять в соответствии с прилагаемым руководством.

Процедура теста

Выймите предварительно покрытый микротитрационный планшет **5 x 250 мкл разбавленным промывочным буфером**. После окончательной промывки, перевернутым планшетом постучать по листу бумаги, чтобы удалить излишки раствора.

Испытания проводить в дублях.

1. Добавить **100 мкл STD** (Стандарт), **CTRL** (Контроли) и **предварительно разведенной пробы** в соответствующие лунки.
2. Инкубировать в течение **1 часа** встряхиванием на горизонтальном миксере при комнатной температуре.
3. Декантировать содержимое Планшета и промыть лунки **5 раз с 250 мкл** разведенного промывочного буфера.
4. Добавить **100 мкл** предварительно разведенного **CONJ** (меченные пероксидазой антитела).
5. Инкубировать в течение **1 часа** встряхиванием на горизонтальном миксере при комнатной температуре.
6. Декантировать содержимое Планшета и промыть лунки **5 раз с 250 мкл** разведенного промывочного буфера.
7. Добавить **100 мкл SUB** (TMB субстрата).
8. Инкубировать в течение **10-20 минут** при комнатной температуре.
9. Добавить **50 мкл STOP** (Стоп раствор) и быстро смешать.
10. Определить **поглощение немедленно** считывателем ELISA при **450 нм** против 620 нм (или 690 нм) в качестве

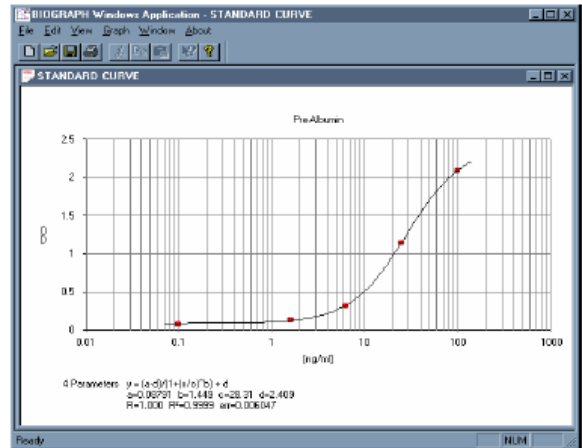
референтного значения. Если референсная длина волны не доступны, считать результат только при 450 нм. Если значение на самом высоком уровне превышает диапазон измерения фотометра, поглощение должно быть измерено непосредственно при 405 нм к 620 нм (или 690 нм) в качестве ссылки.

10. РЕЗУЛЬТАТЫ

Калибровочная кривая строится из стандартов. Коммерчески доступное программное обеспечение может быть использовано, а также миллиметровая бумага. Результаты образцов считываются из этой калибровочной кривой.

КАЛИБРОВОЧНАЯ КРИВАЯ НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛИНЕЙНОЙ, поэтому рекомендуется использование сплайн-алгоритма.

Типичная калибровочная кривая



Concentration [ng/ml]	100	25	6.25	1.6	0
OD mean values	2.088	1.145	0.318	0.134	0.081

Данные представлены только для демонстрации и не могут быть использованы для оценки результатов испытаний.

Фекалии

Для определения концентрации преальбумина образцов кала провести расчет как описано в следующем примере:

Вес: 80 мг (1 мл кала = 1г) = 0,08 мл

Разбавление Шаг 1: 5 мл/0,08 мл = 62,5

Разбавление шаг 2: 40

Коэффициент разведения: 2500

Результат умножить на **2500**, чтобы получить реальную концентрацию. Коэффициент разбавления зависит от массы фекалий.

Образцы сыворотки/плазмы

Для расчета концентрации преальбумина в **сыворотке/плазме** результат должен быть умножен на **20,000**.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ

Образцы преальбумина со значениями, большими, чем самое высокое стандартное значение, следует дополнительно разбавить и повторно протестировать.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Immundiagnostik рекомендует использовать коммерческие контрольные образцы для внутреннего контроля качества.

Контрольные образцы должны анализироваться в каждом анализе. Результаты, полученные от анализа контрольных образцов, должны быть оценены на приемлемость использования соответствующих статистических методов. Результаты для образцов пациента могут быть не действительными, если в течение одного и того же анализа одно или больше значений контрольных образцов находятся вне допустимых пределов.

Ожидаемые значения

Каждая лаборатория должна установить свои базовые значения.¹

13. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность

Два образца сыворотки были разбавлены 1:10000 или 1:20000 и проанализированы с использованием данного теста.

Внутри анализа (n=24)		
Образец	Преальбумин (мкг/мл)	CV, %
1	196.6	3.8
2	117.8	3.0

Между анализами (n=14)		
Образец	Преальбумин (мкг/мл)	CV, %
1	193.0	6.5
2	117.3	4.6

Чувствительность

Предел чувствительности был установлен как $B_0 + 2SD$. Нулевой стандарт был измерен 20 раз.

n=20

Образец	Среднее значение Преальбумина OD	Вариативность стандарта	Предел обнаружения (нг/мл)
1	0.048	0.014	0.933

Без учета коэффициента разведения.

Перекрестная реактивность

(См. Оригинал инструкции).

14. ЛИТЕРАТУРА (См. Оригинал инструкции).

15. ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ ТЕСТИРОВАНИЯ

- Данный анализ был подготовлен и распространен в соответствии с руководящими принципами IVD 98/79/ЕС.
- Все реагенты в комплекте набора предназначены только для использования в In-Vitro диагностике.
- Руководящие принципы для медицинских лабораторий должны быть соблюдены.
- Время инкубации, температура инкубации и объемы пипетирования компонентов определяются производителем. Любое изменение процедуры теста, не согласованное с производителем, может повлиять на результаты теста. Immundiagnostik AG в таком случае не несет ответственности за любой ущерб в результате не правильного использования.
- Претензии и жалобы в отношении недостатков должны быть предъявлены в течение 14 дней после получения товара. Продукт должен быть отправлен компании Immundiagnostik AG наряду с письменной жалобой.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com