

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ α_1 -МИКРОГЛОБУЛИНА

K6710, α_1 -Microglobulin ELISA

Каталог. № : K 6710

Методика от 29-10-2013

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.

Для диагностического использования в *in-vitro* диагностике

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Данный анализ предназначен для количественного определения α_1 -Микроглобулина в образцах сыворотки, плазмы и мочи человека. Только для диагностики In-Vitro.

2. РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ ТЕСТА

(См. оригинал инструкции).

Показания

- Ранняя диагностика воспалительных заболеваний почек
- Острая почечная недостаточность
- Почечная и после почечная протеинурии

3. ПРИНЦИП ТЕСТА

Этот иммуноферментный анализ (ИФА) позволяет количественное определение человеческого α_1 -микроглобулина в плазме, сыворотке и моче. α_1 -микроглобулин в образцах связан с избытком поликлональных кроличьих антител анти- α_1 -микроглобулина, иммобилизованных на поверхности микротитрационного планшета. После стадии промывки, чтобы удалить все инородные вещества, количественное определение связанного α_1 -микроглобулина осуществляется путем добавления меченных пероксидазой антител, которые также связываются с α_1 -микроглобулином. Количество преобразованного субстрата пероксидазы прямо пропорционально количеству связанного α_1 -микроглобулина и может быть определено фотометрически при 450 нм или при 405 нм, если угасание вне диапазона.

4. ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Кат. №	Содержание	Компоненты набора	Кол-во
K 6710MTP	PLATE	Один держатель с полосками	96
K 6710WP	WASHBUF	Промывочный концентрат 10x	1 x 100 мл
K 6710K	CONJ	Конъюгат (кроличий-анти- α_1 -Микроглобулин)	1 x 400 мкл
K 6710ST	STD	Калибраторы, (0; 0.019; 0.055; 0.166; 0.5; 1.5 мг/л)	6 x 250 мкл
K 6710KO1	CTRL	Контроль, лиофилизированный	1 x 250 мкл
K 6710KO2	CTRL	Контроль, лиофилизированный	1 x 250 мкл
K 6710NaCl	NACL	0.9% Раствора NaCl, готов к использованию	200 мл
K 6710TMB	SUB	TMB субстрат, готов к использованию	2 x 15 мл
K 6710AC	STOP	Стоп раствор, готов к использованию	1 x 15 мл

5. ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Бидистиллированная вода (аква-бидистиллированная)
- Лабораторные весы
- Прецизионные пипетки и одноразовые наконечники 5-1000 мкл
- Фольга для накрывания микропланшета
- Горизонтальный микропланшетный шейкер
- 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 450 или 405 нм (контрольная длина волны 620 или 690 нм)

6. ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

- Чтобы провести тест несколько раз, убедитесь, что реагенты хранятся в условиях, указанных на этикетке. **Подготовьте только соответствующее количество, необходимое для каждого анализа.** Набор может использоваться до 4 раз до окончания срока годности, указанного на этикетке.
- Реагенты с объемом менее **100 мкл** следует центрифугировать перед использованием, чтобы избежать потери объема.
- WASHBUF** (буфер для отмывки, концентрат) следует разбавить аква-бидистиллированной водой **1:10** перед использованием (100 мл WASHBUF + 900 мл аква-бидистиллированной воды), тщательно перемешать. Кристаллы могут присутствовать из-за высокой концентрации соли в основных растворах. Кристаллы должны быть растворены при 37 ° C с помощью водяной бани **перед разбавлением. Концентрат буфера стабилен при 2-8 °C** до окончания срока годности, указанного на этикетке. Разведенный **буферный раствор** можно хранить в закрытой колбе при температуре **2-8 °C в течение одного месяца.**
- STD** (Калибраторы) и **CTRL** (контроли) должны быть восстановлены с **250 мкл** дистиллированной воды. Разрешить содержимому флакона постоять в течение 10 минут и тщательно перемешать, осторожно переворачивая, до полного растворения. Восстановленные калибраторы и контроли можно хранить при температуре -20 °C до истечения срока годности, указанного на этикетке. Повторного размораживания и замораживания следует избегать.
- CONJ** (конъюгат, POD-антитело) должен быть разведен **1: 100** в промывочном буфере (200 мкл CONJ + 20 мл промывочного буфера). Антитело стабильно при **2-8 °C** до окончания срока годности, указанного на этикетке. **Разведенный конъюгат не является стабильным и не может быть оставлен на хранение.**

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для диагностики In Vitro.
- Человеческий материал, используемый в наборе, был проверен и признан отрицательным на ВИЧ, гепатит В и гепатит С. Однако, в целях безопасности, все компоненты набора должны рассматриваться как потенциально инфицированные.
- Стоп раствор состоит из серной кислоты, которая является сильной кислотой. Даже с разбавленной, с ней, по-прежнему, необходимо обращаться с осторожностью. Она может вызвать химические ожоги и работать с ней необходимо в перчатках, защитных очках, а также соответствующей защитной одежде. Любой разлив должен быть устранен немедленно с большим количеством воды.
- Не использовать реагенты после окончания срока годности, указанного на этикетке.

8. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Плазма или сыворотка

Образцы могут храниться в течение двух недель при 4 °C. Они должны быть заморожены при хранении дольше. Развести все плазмы и сыворотки образцов **1:500 с NaCl (0.9% NaCl)** (например, 10 мкл образца + 990 мкл 0.9% NaCl = 1:100 разбавление, а затем 100 мкл 1:100 разбавления + 400 мкл 0.9% NaCl).

Моча

Моча должна быть приведена до pH 6-8 с помощью 1N NaOH. Скорректированные образцы могут храниться при температуре 2-8 °C в течение 14 дней. Для более длительного хранения необработанные образцы должны быть заморожены при температуре -20 °C. Развести все образцы мочи 1:20 в 1% BSA в PBS (например, 50 мкл мочи + 950 мкл 1% BSA в PBS).

9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Примечания к методике

- Не меняйте компоненты из разных лотов наборов в том же анализе.
- Должны быть соблюдены принципы контроля качества.
- Время инкубации, температура инкубации и объемы пипетирования компонентов определяются производителем. Любые изменения процедуры испытаний, которые не согласованы с производителем, могут повлиять на результаты теста. Immundiagnostik AG, следовательно, не может нести ответственность за любой ущерб в результате неправильного использования.
- Анализ должен всегда выполняться в соответствии с прилагаемым руководством.

Процедура теста

Тесты проводить в дублях на поставляемом микропланшете.

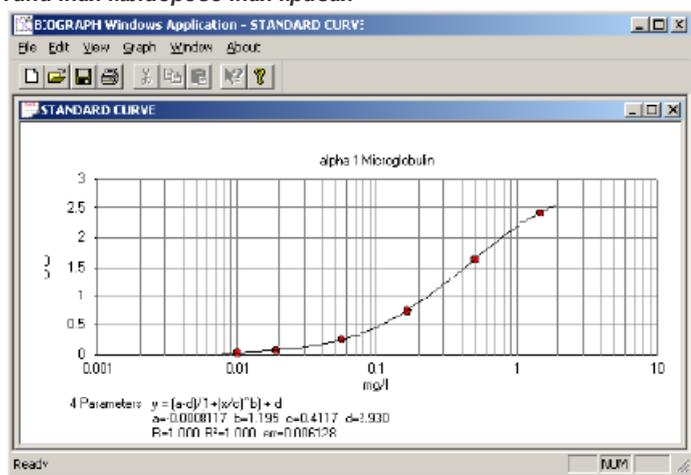
1. Промыть лунки **5 x 250 мкл** промывочного буфера.
2. Добавить **200 мкл NaCl** (0.9% раствор NaCl).
3. Добавить **10 мкл STD** (стандарт), **CTRL** (контролей) и **образца пациента** в каждую лунку в двух экземплярах.
4. Накрывать пластину плотно и инкубировать в течение **1 часа при комнатной температуре (18-26 °C) встряхивая** на горизонтальном смесителе или в течение **2 часов при комнатной температуре (18-26 °C) без какого-либо встряхивания**.
5. Слить содержимое лунок и промыть лунки **5 раз с 250 мкл** промывочного буфера.
6. Добавить **200 мкл предварительно разведенного конъюгата**.
7. Инкубировать в течение **1 часа** встряхиванием на горизонтальном смесителе при комнатной температуре.
8. Слить содержимое лунок и промыть лунки **5 раз с 250 мкл** промывочного буфера.
9. Добавить **200 мкл SUB** (Раствор ТМБ-субстрата).
10. Инкубировать в течение **10-20 минут** при комнатной температуре до тех пор, пока цветовые различия не будут достаточными.
11. Добавить **50 мкл STOP** (стоп раствор) и смешать в ближайшее время.
12. Считайте **поглощение** с ИФА – считывающее устройство **при 450 нм** против 620 нм (или 690 нм) в качестве контроля. Если контрольная длина волны не доступна, считайте только при 450 нм. Если ослабление наивысшего стандарта выходит за границы диапазона фотометра, поглощение необходимо измерять немедленно при 450 нм против 620 нм в качестве контроля.

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 spline- или 4PL алгоритм.

Типичная калибровочная кривая



Концентрация мг/л	0	0.019	0.055	0.166	0.5	1.5
Среднее значение ОП	0.025	0.076	0.250	0.732	1.638	2.414

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

Сыворотка, плазма

Результат должен быть умножен на **500** для расчета концентрации образца.

Моча

Результат должен быть умножен на **20**, чтобы вычислить концентрацию образца.

11. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность и воспроизводимость

Внутрисерийная n = 17

Образец	Среднее значение α -Микроглобулина (мг/л)	Внутрисерийное CV (%)
1	0.262	8.96

Чувствительность

Предел чувствительности был установлен как $V_0 + 3 SD$ и приблизительно составил 0.006 мг/л. Нулевой стандарт измерялся 10 раз.

Образец	Среднее значение α -Микроглобулина (OD)	Стандартная вариация	Предел обнаружения (мг/л)
1	0.0023	0.002	0.006

Перекрестная реактивность

Не наблюдалось перекрестной реактивности с МРО и калпротектином.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ

Образцы с уровнями альфа-1-микроглобулина больше, чем самый высокий калибратор, должны быть дополнительно разбавлены и повторно проанализированы.

13. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использование независимых внешних контролей для целей контроля качества.

Референсные значения

Плазма или сыворотка: < 60 мг/л
Моча: < 12 мг/л

14. ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ ТЕСТИРОВАНИЯ

- Данный анализ был подготовлен и распространен в соответствии с руководящими принципами IVD 98/79/ЕС.
- 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.
- Все реагенты в комплекте набора предназначены только для использования в In-Vitro диагностике.
- 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.
- Не смешивайте компоненты из разных наборов и партий.
- Руководящие принципы для медицинских лабораторий должны быть соблюдены.
- Не использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Раствор субстрата должен оставаться бесцветным до использования.
- Для обеспечения точности результатов необходимо плотное герметичное соединение пластин во время инкубации.
- Избегайте вспенивания при смешивании реагентов.
- Анализ всегда должен быть выполнен в соответствии с прилагаемым руководством.



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