

# НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮТАМАТА

## K7731, Glutamate Kit

Каталог. № : K 7731

Методика от 12-03-2013

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.

**Только для исследовательских целей**

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Данный анализ предназначен для определения глутамата в человеческой ЭДТА плазме и сыворотке. Только для исследовательских целей.

### 2. ВВЕДЕНИЕ (См. оригинал инструкции).

### 3. ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА

Этот анализ является фотометрическим тестом, который предназначен для определения человеческого глутамата ферментативным обезвоживанием, в котором НАД + преобразуется в НАД восстановленный.

В этой реакции человеческий глутамат окисляется до  $\alpha$ -КГ путем снижения НАД + в NADH. Эта реакция может быть измерена при 340 нм и она пропорциональна количеству окисленного человеческого глутамата.

### 4. ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Кат. №	Содержание	Компоненты набора	Кол-во
K7731MTP	PLATE	Один держатель с предварительно покрытыми полосками	12 x 8 лунк
K7731ST	STD	Стандарты, готовы к использованию	4 x 1 флакон
K7731KO	CTRL 1 CTRL 2	Контроли, готовы к использованию	2 x 1 флакон
K7731AP	ASYBUF	Рабочий буфер, готов к использованию	16 мл
K7731RP	REABUF	Реакционный буфер, лиофилизированный	2 x 1 флакон
K7731EB	ENZ B	Глутамат дегидрогеназа, концентрат	2 x 1 флакона

### 5. ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Ультрочищенная вода
- Прецизионные пипетки и одноразовые наконечники 10-1000 мкл
- Фольга для накрытия планшета
- 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 340 нм
- Инкубатор с нагреванием до 37 °С

### 6. ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

- Для выполнения анализа более одного раза, убедитесь в том, что реагенты хранятся в условиях, указанных на этикетке. **Подготовьте только соответствующее количество, необходимое для каждого анализа.** Комплект может использоваться до 2 раз в течение срока годности, указанного на этикетке.
- Хранить **стандарты (STD) и контроли (CTRL)** замороженными при **-20 °С**, разморозить перед использованием в тесте и хорошо перемешать. Повторно заморозить стандарты и контроли немедленно после использования. Они могут быть повторно заморожены до 2 раз.
- Растворить содержимое одного флакона **реакционного буфера (REABUF)** в **3 мл ультраочищенной воды**, хорошо перемешать. Избавиться от любого оставшегося количества после использования. Содержание в наборе двух флаконов REABUF позволяет провести анализ два раза.

- К содержимому одного флакона **глутамата дегидрогеназы (ENZ B)** добавить **2.6 мл буфера для анализа (ASYBUF)**, хорошо перемешать. Избавиться от любого оставшегося количества после использования. Содержание в наборе двух флаконов ENZ B позволяет провести анализ два раза.
- Все другие реагенты теста стабильны до окончания срока годности (см. этикетку тестового пакета) при температуре **2-8 °С**.

### 7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для использования в In-Vitro диагностике.
- Не использовать после окончания срока годности, указанного на этикетке.

### 8. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

#### Образцы ЭДТА плазмы и сыворотки

- Для данного анализа подходит венозная кровь, взятая натощак. Так как глутамат чувствителен к температуре, использовать свежие образцы крови или отправлять образцы на хранение при **-20 °С** сразу после сбора. До использования в тесте поддерживать образцы в холодном состоянии.
- Липемические или гемолитические образцы могут давать ошибочные результаты и не должны использоваться для анализа.
- Если есть менее 50 мкл образца, рекомендуется его разбавление 1:2 в SAMPLEBUF (25 мкл образца + 25 мкл SAMPLEBUF). Этот коэффициент разбавления необходимо учитывать при оценке данных.
- Образцы с видимым количеством осадков следует центрифугировать.

### 9. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

#### Примечания к методике

- Анализ должен проводиться согласно указанным методикам.
- 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.

#### Процедура теста

1. Отметить положения стандартов (STD)/контролей (CTRL)/образцов (SAMPLE) в двух экземплярах на листке протокола.
2. Взять столько полосок из набора, сколько необходимо для анализа. Храните неиспользованные полоски запечатанными при комнатной температуре.
3. Добавить <b>2x50 мкл стандартов (STD)/контролей (CTRL)/образцов (SAMPLE)</b> в соответствующие лунки микротитрационного планшета (PLATE).
4. Добавить <b>50 мкл высокоочищенной воды</b> в каждую лунку.
5. Добавить <b>100 мкл буфера для анализа (ASYBUF)</b> в каждую лунку.
6. Добавить <b>50 мкл реакционного буфера (REABUF)</b> в каждую лунку, и определить поглощение немедленно считывателем ELISA при 340 нм (OD <sub>бланк</sub> ).
7. Добавить <b>50 мкл разбавленного глутамата дегидрогеназы (ENZ B)</b> в каждую лунку. Плотно закрыть крышкой.
8. Инкубировать при <b>37 °С</b> в течение <b>15 минут</b> .
9. Определить плотность при <b>340 нм (OD образца)</b> .
10. Для анализа полученных данных см. главу 10 "Оценка результатов".

### 10. РЕЗУЛЬТАТЫ

Если испытание проводится в строгом соответствии с инструкциями производителя (т.е. с точными объемами для стандартов, контролей и образцов, и при правильном обращении с образцом), стандарты, контроли и образцы в равной степени разбавляются. Поэтому **никакой коэффициент разбавления не требуется для расчета результатов.**

Исключение: Если образцы разбавляют 1:2, результаты должны быть умножены на 2.

Для расчета результатов необходимо вычесть значения оптической плотности бланка ( $OD_{BLANK}$ ) из значений OD после добавления фермента ( $OD_{SAMPLE}$ ):

$$\Delta OD = OD_{SAMPLE} - OD_{BLANK}$$

Для построения стандартной кривой  $\Delta OD$  стандартов на графике откладывают против стандартных концентраций. С полученным графиком и отсеженным отрезком по оси y, концентрации глутамата образцов могут быть рассчитаны:

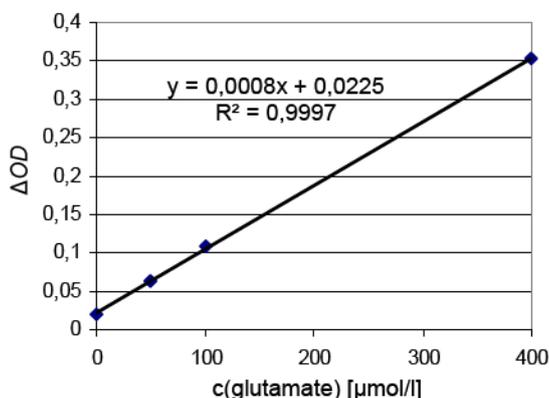
$$glutamate [\mu\text{mol/l}] = \frac{\Delta OD - \text{intercept}}{\text{slope}}$$

### Контроли

Контрольные образцы должны быть проанализированы 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 пределах одного анализа одно или более контрольных значений находятся вне допустимых пределов.

Ниже приведен пример калибровочной кривой; не использовать его для расчета результатов.

### Типичная калибровочная кривая



### Ожидаемые значения

На основе внутренних исследований образцов сыворотки от очевидно здоровых людей ( $n = 24$ ) было получено среднее значение 144 мкмоль/л. Стандартная вариативность составила 34 мкмоль/л.

Среднее значение  $\pm 2$  x вариативность стандарта:  $144 \pm 68$  мкмоль/л  
 Нормальный диапазон: 76 - 212 мкмоль/л

Мы рекомендуем каждой лаборатории разработать свои собственные нормальные значения. Указанные выше значения являются лишь ориентировочными и могут отличаться от других опубликованных данных.

## 11. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Точность и воспроизводимость

Внутри анализа (n=6)		
Образец	Глутамат (мкмоль/л)	CV, %
1	109.6	2.1
2	223.4	1.7

Между анализами (n=6)		
Образец	Глутамат (мкмоль/л)	CV, %
1	98.2	1.3
2	15.6	1.3

### Чувствительность

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

Образец	Среднее значение Глутамата OD	2x Вариативность стандарта	Предел обнаружения (мкмоль/л)
0	0.02	12.6	5.9

### Восстановление

Один образец сыворотки был обогащен различными концентрациями глутамата и измерен в данном анализе. Уровень аналитического восстановления определялся как ожидаемый и

измеренный уровни глутамата. Ожидаемые уровни были рассчитаны как сумма измеренных концентраций глутамата в исходном образце и количества обогащенного глутамата. Средняя скорость восстановления для всех концентраций составила 100.5% ( $n = 6$ ).

Вещество (мкмоль/л)	Ожидаемое значение Глутамата (мкмоль/л)	Измеренное значение Глутамата (мкмоль/л)	Восстановление (%)
0		100.7	
25	150.7	152.7	101.3
50	200.7	200.1	99.7

### Линейность

Линейность теста определялась путем разбавления обогащенного образца сыворотки. Среднее значение линейности составило 95.5%.

Разведение	Ожидаемое значение (мкмоль/л)	Измеренное значение (мкмоль/л)	Восстановление (%)
Оригинальный образец		100.7	
1 + 1	50.4	49.6	98.4
1 + 3	25.2	23.3	92.5

## 12. ОГРАНИЧЕНИЯ

Гемолитические и липемические образцы могут давать ошибочные результаты. Не измерять гемолитические и липемические образцы.

## 13. ЛИТЕРАТУРА (См. Оригинал инструкции).

## 14. ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ ТЕСТИРОВАНИЯ

- 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.



### ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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