



Набор для количественного определения ферритина в человеческой сыворотке и плазме

Кат. № : 105-4408
Количество : 96
Производитель : DRG (Германия)

Методика от 02-2005
Версия 1.0

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

2. 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 ТМВ-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.

3. РЕАГЕНТЫ, МАТЕРИАЛЫ И ИНСТРУМЕНТЫ

3.1 Поставляемые с набором реагенты и материалы

1. Стандарты ферритина:

STD0 0.0 нг/мл (1 флакон) 3.0 мл
STD1 5.0 нг/мл (1 флакон) 1.0 мл
STD2 20.0 нг/мл (1 флакон) 1.0 мл
STD3 100 нг/мл (1 флакон) 1.0 мл
STD4 400 нг/мл (1 флакон) 1.0 мл
STD5 1000 нг/мл (1 флакон) 1.0 мл

2. Конъюгат (1 бутылка) 12 мл. Анти-ферритин-HRP конъюгат.

3. Покрытый микропланшет (1 микропланшет, делимый).

Анти-ферритин IgG, покрытые на микропланшете.

4. Концентрат промывочного раствора (1 бутылка).

Фосфатный буфер 50 мМ рН 7.4; Tween-20 1 г/л, 50 мл.

5. ТМВ субстрат (1 бутылка), 12 мл.

H₂O₂-ТМВ 0.25 г/л (избегайте любого контакта с кожей).

6. Стоп-раствор (1 бутылка), 12 мл.

Серная кислота 0.15 моль/л (избегайте любого контакта с кожей).

3.2 Замечания

Храните все реагенты между +2 и +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.

3.3 Требуемые, но не поставляемые с набором реагенты

Дистиллированная вода.

3.4 Дополнительные материалы и инструменты

- Автоматический дозатор.
- Микропланшетный считыватель.

3.5 Подготовка реагентов

Разбавленный промывочный раствор:

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.

4. 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.

4. 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.
- Откалиброванные стандарты (против IS Ferritin O3 80/602) имеют приблиз. 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.

5. 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
ТМВ-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.

6. КАЛИБРОВОЧНАЯ КРИВАЯ – ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

6.1 Средняя абсорбция и относительное процентное соотношение

- Вычислить среднее значение абсорбций (Em) по отношению к отдельным точкам на калибровочной кривой и для каждого образца.
- Вычитите среднее значение абсорбции нулевого стандарта от значений средней абсорбции стандартов и образцов.
- Выведите калибровочную кривую на логарифмической бумаге, составляя график значений абсорбции стандарта против соответствующей концентрации ферритина.
- Считайте концентрации ферритина в контроле и образцах.

7. РЕФЕРЕНТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны значений в норме, основанные на географическом населении пациентов.

Значения сыворотки или плазмы находятся в следующих пределах:

	Образец	Среднее (нг/мл)	Диапазон (нг/мл)
Женщины перед менопаузой	50	50	6-180
Женщины после менопаузой	30	105	8-350
Мужчины	50	175	20-400

8 . РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

8.1 Специфичность

Перекрестная реактивность покрытого микропланшета была вычислена на принципеом Абрахама и указана в таблице:

Изо-ферритин печени	100.0 %
Изо-ферритин селезенки	80.0 %
Изо-ферритин сердца	12.0 %

8.2 Чувствительность

Самая низкая обнаруживаемая данным анализом концентрация человеческого ферритина составила 1.0 нг/мл.

8.3 Точность**Вариативность в пределах анализа**

Точность в пределах процедуры была определена из репликатов 3 разных контролей в 1 анализе. Вариативность в пределах анализа указана ниже:

Образец	1	2	3
Кол-во репликатов	16	16	16
Среднее ферритина (нг/мл)	15,6	76,1	160,2
Станд. отклонение	0,84	2,8	5,2
Козфф. вириации (%)	5,4	3,7	3,24

Вариативность между анализами

Точность в между процедурами была определена из репликатов 3 разных контролей в 1 анализе. Вариативность между анализами указана ниже:

Образец	1	2	3
Кол-во репликатов	16	16	16
Среднее ферритина (нг/мл)	15,4	78,2	165,2
Станд. отклонение	0,88	3,6	6,93
Козфф. вириации (%)	5,7	4,6	4,2

8.4 Восстановление

Различные образцы пациентов с известными уровнями ферритина были объединены и анализировались в двойном экземпляре. Среднее восстановление составило 98.0 % в отношении с первоначальными концентрациями.

Паци-ент	Добавл. ферри-тин (нг/мл)	Ожид. конц. (нг/мл)	Наблюд. конц. (нг/мл)	Восстановл. (%)
1			18	
	50	68	65	95,6
	100	118	122	103,4
	200	318	310	97,6
1			128	
	50	178	169	94,9
	100	228	234	102,6
	200	328	317	96,6

8.5 Линейность

В линейном исследовании были последовательно разбавлены нулевым стандартом два образца пациентов. Среднее восстановление составило 103.7%.

Паци-ент	Разбавление	Ожид. конц. (нг/мл)	Наблюд. конц. (нг/мл)	Восстановл. (%)
1	--		86	
	1:2	43.0	45.1	105.4
	1:4	21.5	22.1	102.5
	1:8	11.75	12.4	107.6
1	1:2		128	
	1:4	64	65,0	101,6
	1:8	32	30,4	93,7
	--	16	17,1	106,1

8.6 Ограничения использования

В этом анализе не наблюдалось никакого «хук-эффекта» до 50 000 нг/мл ферритина.

8.7 Корреляция с другим методом

Данный набор был сравнен с имеющимся в продаже РИА набором. Анализ линейной регрессии данных дал следующий результат для 60 пациентов со значениями ферритина между 4-538 нг/мл:

$$Y = 2.8 + 1.06X \quad r = 0.99$$

Реагенты должны уничтожаться в соответствии с местными законами.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»

Ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: +38 (0342) 77 51 22

Тел/факс: (0342) 77 56 12

E-mail: info@diameb.com

www.diameb.com

