

# НАБІР РЕАГЕНТІВ ФІБРИНОГЕН (ЛЮДИНИ) ELISA

## Fibrinogen (Human) ELISA

Кат. № : EIA-5414  
Кількість : 96

Дата випуску інструкції: 03-2019  
Версія 7.0



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу і перекладу інструкції повинні збігатися.

Призначений тільки для дослідницьких, а НЕ для діагностичних цілей

### 1 ПРИЗНАЧЕННЯ

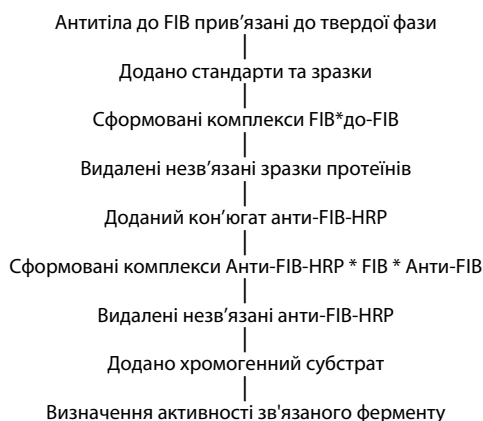
Фібриноген тест-набори є високочутливим іммуноаналізом (ІФА) для вимірювання Фібриногену в біологічних зразках людини.

### 2 ВСТУП

Розчинний фібриноген (FIB) циркулює в крові і забезпечує матеріал, з якого утворюється нерозчинний фібриновий згусток під час згортання крові. Фібриноген є реагентом гострої фази, який може бути корисним маркером для визначення інфекції та запалення. Цей набір ІФА можна використовувати для вимірювання Фібриногену у біологічних зразках.

### 3 ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Принцип подвійного антитіла типу «сендвіч» ІФА представлений на Мал. 1. У цьому аналізі фібриноген, присутній у зразках, реагує з антифібриногеновими антитілами, які були адсорбовані на поверхні полістиролових мікротитрових лунок. Після видалення незв'язаних білків шляхом промивання додають антитіла до FIB, кон'юговані з пероксидазою хрому (HRP). Ці ферментно-мічені антитіла утворюють комплекси з попередньо зв'язаним FIB. Після іншої стадії промивання, фермент, зв'язаний з імуносорбентом, аналізують додаванням хромогенного субстрату, 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ). Кількість зв'язаного ферменту змінюється безпосередньо з концентрацією FIB в досліджуваному зразку; таким чином, поглинання при 450 нм є мірою концентрації FIB в досліджуваному зразку. Кількість FIB в досліджуваному зразку можна інтерполювати зі стандартної кривої, побудованої за стандартами, і скоригувати для розведення зразка.



Малюнок 1

### 4 РЕАГЕНТИ

(Достатньо для 96 визначень)

- Концентрат розчинника (Рухомий буфер):**  
Одна пляшка, який містить 50 мл 5x концентрованого розчинника рухомого буферу.
- Концентрат промивного розчину**

Одна пляшка, яка містить 50 мл 20X концентрованого промивного розчину.

- Кон'югат фермент-антитіло 100X**  
1 флакон, який містить 150 мкл, афінно очищеного антитіла до людського фібриногену, кон'югованого з пероксидазою хрому в стабілізуючому буфері.
- Розчин хромоген-субстрату**  
Один флакон, який містить 12 мл 3,3', 5,5' – тетраметилбензидину (ТМБ) та перекису водню у буфері лимонної кислоти при рН 3.3.
- Стоп-розчин**  
1 флакон, який містить 12 мл 0.3 М сірчаної кислоти.  
УВАГА: Уникайте контакту зі шкірою.
- Анти-людський фібриноген ELISA мікропланшет**  
Дванадцять знімних вісім (8) лунок смужок мікролунок у рамці тримача лунок. Кожна лунка покрита афінно очищеним анти-людським FIB.
- Калібратор людського фібриногену**  
Один флакон, який містить калібратор ліофілізованого людського фібриногену.

ВИКОРИСТОВУВАТИ ТІЛЬКИ ДЛЯ IN VITRO

### 5 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

#### 1. Концентрат розчинника

Розчинник, який постачається, являє собою 5X-концентрат і повинен бути розведений 1/5 дистильованою або деіонізованою водою (1 частина буферного концентрату, 4 частини dH<sub>2</sub>O).

#### 2. Концентрат промивного розчину

Розчин для миття, що постачається є 20X концентратом і повинен бути розведений 1 / 20 дистильованою або деіонізованою водою (1 частина буферного концентрату, 19 частин dH<sub>2</sub>O).

Формування кристалів у концентраті не є рідкісним при низьких температурах зберігання. Нагрівання концентрату до 30 °C - 35 °C перед розведенням може розчинити кристали.

#### 3. Кон'югат фермент -антитіло

Розрахуйте необхідну кількість розчину робочого кон'югату для кожної тест-смужки мікротитрувального планшета, додавши 10 мкл кон'югату ферменту-антитіла до 990 мкл 1X розчинника для кожної тест-смужки, яка буде використовуватися для тестування.

Змішати рівномірно, але обережно. Уникайте спінювання.

#### 4. Розчин хромоген-субстрату

Готовий до використання.

#### 5. Стоп розчин

Готовий до використання.

#### 6. Анти-людський Фібриноген ІФА мікропланшет

Готовий до використання.

Відкрийте мікротитрову упаковку та витягніть планшет. Видаліть всі смужки і лунки, які не будуть використовуватися в аналізі, і помістіть їх назад в упаковку і знову закрийте разом з осушувачем.

#### 7 Калібратор людського фібриногену

Додайте 1.0 мл дистильованої або деіонізованої води до калібратора людського фібриногену та обережно перемішайте поки не розчиниться. Концентрація калібратора тепер становить **7.680 мкг/мл** (відновлений калібратор повинен бути аліквотним і замороженим, якщо передбачається подальше використання).

Стандарти людського фібриногену повинні бути підготовлені безпосередньо перед використанням (див. Наступну діаграму).

Добре перемішайте між кожним етапом. Уникайте спінювання.

Стандарт	нг/мл	Доданий об'єм до 1x розчинника	Об'єм 1x розчинника
6	400	<b>50 мкл калібратора фібриногену</b>	<b>910 мкл</b>
5	200	300 мкл стандарту 6	300 мкл
4	100	300 мкл стандарту 5	300 мкл
3	50	300 мкл стандарту 4	300 мкл
2	25	300 мкл стандарту 3	300 мкл
1	12.5	300 мкл стандарту 2	300 мкл
0	0		600 мкл

## 6 ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ

Термін придатності для упаковки вказаний на етикетці коробки.

### 1. Розчинник

Концентрат розчинника 5X стабільний до закінчення терміну придатності. 1X робочий розчин стабільний щонайменше один тиждень від дати приготування. Обидва розчин потрібно зберігати при температурі 4°C - 8°C.

### 2. Промивний розчин

Концентрат промивного розчину 20X стабільний до закінчення терміну придатності. 1X робочий розчин стабільний щонайменше протягом одного тижня від дати приготування. Обидва розчини можна зберігати при кімнатній температурі (16°C - 25°C) або при температурі 4°C - 8°C.

### 3. Кон'югат фермент-антитіло

Кон'югат нерозведеної пероксидази хрому анти- Fib потрібно зберігати при температурі 4°C - 8°C та **розчиняти безпосередньо перед використанням**. Робочий розчин кон'югату стабільний до 1 години, якщо зберігати у темному місці.

### 4. Розчин хромоген-субстрату

Розчин субстрату потрібно зберігати при температурі 4°C - 8°C і стабільний до закінчення терміну придатності.

### 5. Стоп розчин

Стоп розчин потрібно зберігати при температурі 4 °C – 8 °C і є стабільним до закінчення терміну придатності.

### 6. Анти-людський фібриноген ІФА мікропланшет

Лунки покриті анти-Human Fib стабільні до закінчення терміну придатності, і повинні зберігатися при температурі 4°C - 8°C у герметичній алюмінієвій упаковці з осушувачем.

### 7. Калібратор людського фібриногену

**Калібратор ліофілізованого людського фібриногену потрібно зберігати при температурі 4°C або замороженим до розведення. Розведений калібратор потрібно аліквотувати та зберігати замороженим (уникайте численних циклів розмороження-замороження).** Розчини робочих стандартів потрібно приготувати безпосередньо перед використанням і є стабільними до 8 годин.

## Показники нестабільності

Якщо тест виконується правильно, результати, що спостерігаються зі стандартними розчинами, повинні бути в межах 20% від очікуваних значень.

## 7 ЗАБІР І ОБРОБКА ЗРАЗКІВ

Забір крові слід робити венепункцією.

Сироватку потрібно відділити від клітин

## 8 МАТЕРІАЛ, ЯКИЙ ПОСТАЧАЄТЬСЯ

Дивитись «РЕАГЕНТИ»

## 9 НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

- Прецизійна піпетка (2 мкл до 200 мкл) для приготування і внесення розведень
- Тест-пробірки
- Мікротитровий вошер/аспіратор
- Дистильована і деіонізована H<sub>2</sub>O
- Мікротитровий планшетний рідер
- Систематизовані скляні вироби для приготування реагентів і буферних розчинів
- таймер

## 10 ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ

### 10.1 Розведення зразків

Аналіз для кількісного визначення FIB вимагає, щоб кожен досліджуваний зразок був розбавлений перед використанням.

*Для більшості зразків сироватки підходить розведення 1/200, і для більшості зразків плазми доцільним є розведення 1/10,000.*

Для абсолютної кількісної оцінки зразка, які показують результати, що виступають за межі діапазону стандартної кривої, можуть вимагати меншого або більшого розведення.

**Якщо не впевнені в рівні зразка, то рекомендується послідовне розведення одного або двох репрезентативних зразків перед запуском всього планшету.**

1. Щоб підготувати **1/200 розведення** зразка, додайте 2 мкл до 398 мкл 1X розчинника. Отримаєте розведення 1/200. Ретельно перемішайте.

2. Щоб приготувати **1/10, 000 розведення** зразка, додайте 5 мкл зразка до 495 мкл 1X розчинника. Потім, додайте 5 мкл розведеного 1/100 зразка до 495 мкл 1X розчинника. Тепер отримаєте 1/10,000 розведення зразка. Ретельно перемішайте на кожному етапі.

## 10.2 Процедура

1. Доведіть усі реагенти до кімнатної температури перед використанням.
2. Піпетуйте 100 мкл  
Стандарту 0 (0.0 нг/мл) у дублікаті  
Стандарту 1 (12.5 нг/мл) у дублікаті  
Стандарту 2 (25 нг/мл) у дублікаті  
Стандарту 3 (50 нг/мл) у дублікаті  
Стандарту 4 (100 нг/мл) у дублікаті  
Стандарту 5 (200 нг/мл) у дублікаті  
Стандарту 6 (400 нг/мл) у дублікаті
3. Піпетуйте 100 мкл зразка (у дублікаті) у попередньо визначені лунки.
4. Інкубуйте мікротитровий планшет при кімнатній температурі протягом шістдесяти (60 ±2) хвилин. Зберігайте пластину накритою та піднімайте під час інкубації.
5. Після інкубації аспіруйте вміст лунок.
6. Повністю наповніть кожну лунку з відповідно розведеним Промивним Розчином та аспіруйте. Повторіть три рази, для чотирьох промивань. Якщо промиваєте вручну: повністю наповніть лунки промивним буфером, перевернути пластину, потім залити / витрусити вміст у контейнер для відходів. Дотримуйтесь цього, різко перевернувши лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишковий буфера. Повторіть 3 рази для всього чотирьох промивань.
7. Піпетуйте 100 мкл відповідно розведеного кон'югату Фермент-Антитіло у кожну лунку. Інкубуйте при кімнатній температурі протягом тридцяти (30±2) хвилин. Зберігайте пластину накритою у темному місці та піднімайте під час інкубації.
8. Помийте і промокніть лунки як описано на етапі 5/6.
9. Піпетуйте 100 мкл Розчину субстрату ТМБ у кожну лунку.
10. Інкубувати в темному місці при кімнатній температурі приблизно протягом десяти (10) хвилин.
11. Через десять хвилин, додайте 100 мкл Стоп Розчину у кожну лунку.
12. Визначіть абсорбцію (450nm) вмісту кожної лунки. Відкалібруйте планшетний зчитувач відповідно до специфікацій виробника.

## Стабільність кінцевої реакційної суміші

Абсорбція кінцевої реакційної суміші може бути виміряна до 2 годин після додавання Стоп Розчину. Однак, добра лабораторна практика вимагає якнайшвидшого проведення вимірювань.


## 11 РЕЗУЛЬТАТИ

1. Відніміть середнє значення фону з тестових значень для кожного зразка.
2. Використовуючи отримані результати для стандартів, побудуйте стандартну криву. Відповідна крива відповідає кривій логістики з чотирьох параметрів. Можуть також використовуватися поліноми другого порядку (квадратичні) або інші криві.
3. Інтерполюйте значення тестового зразка зі стандартної кривої. Корируйте сироватку для коефіцієнту розведення, щоб отримати концентрацію фібриногену у вихідних зразках.

## 12 ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

1. Надійні та відтворювані результати будуть отримані, коли процедура аналізу буде проведена з повним розумінням інформації, що міститься в інструкціях та з дотриманням належної лабораторної практики.
2. Фактори, які можуть впливати на ефективність аналізу, включають належну функцію приладу, чистоту скляного посуду, якістю дистильованої або деіонізованої води, точністю набору реагентів і проб, технікою миття, часом інкубації або температури.
3. Не змішуйте і не заміняйте реагенти з реагентами з інших партій або джерел.

**СИМВОЛИ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ**

Символ	
	Європейської відповідності
	Прочитайте інструкцію щодо використання*
	Пристрій для діагностики <i>in vitro</i>
	№ в каталозі *
	№ партії*
	Достатньо для <n> тестів*
	Обмеження температури*
	Використати до *
	Виробник*
	Увага*
RUO	Тільки для дослідження
Distributed by	поширюється
Content	Вміст
Volume/No.	Об'єм/ №



**ВИРОБНИК**

ДРГ Інструментс ГмбХ  
 вул. Фраунберг 18, 35039  
 м. Марбург, Німеччина  
 Тел: +49(0)64 21/170 00  
 Факс: +49(0)64 21/17 00 50  
[www.drq-diagnostics.de](http://www.drq-diagnostics.de)  
 e-mail: [drq@drq-diagnostics.de](mailto:drq@drq-diagnostics.de)



**УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК**

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
 вул. Симона Петлюри, 25  
 м. Івано-Франківськ, 76014  
 тел.: +38 (0342) 775 122  
 факс: +38 (0342) 775 123  
 e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

