



НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮТАМАТА

Набор для определения Глутамата в образцах
человеческой ЭДТА плазмы и сыворотки

Каталог. № : K7731
Количество : 96
Производитель : Immundiagnostik AG (Германия)

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке.

Методика от 12-03-2013

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 α -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 лунки
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

- Ультра чистая вода
- Прецизионные пипетки и одноразовые наконечники 10-1000 мкл
- Фольга для накрывания 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 °C

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 2 раз в течение срока годности, указанного на этикетке.
- Хранить стандарты (STD) и контроли (CTRL) замороженными при -20 °C, 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 ультра чистой 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 °C.

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 °C 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 2x50 мкл стандартов (STD)/контролей (CTRL)/образцов (SAMPLE) в соответствующие лунки микротитрационного планшета (PLATE).
4. Добавить 50 мкл высокоочищенной воды в каждую лунку.
5. Добавить 100 мкл буфера для анализа (ASYBUF) в каждую лунку.
6. Добавить 50 мкл реакционного буфера (REABUF) в каждую лунку, и определить поглощение немедленно считывателем ELISA при 340 нм (OD <small>бланк</small>).
7. Добавить 50 мкл разбавленного глутамата дегидрогеназы (ENZ B) в каждую лунку. Плотно закрыть крышкой.
8. Инкубировать при 37 °C в течение 15 минут .
9. Определить плотность при 340 нм (OD <small>образца</small>) .
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 ΔOD стандартов на графике откладывают против стандартных концентраций. С полученным графиком и отсеченным отрезком по оси y, концентрации глутамата образцов могут быть рассчитаны:

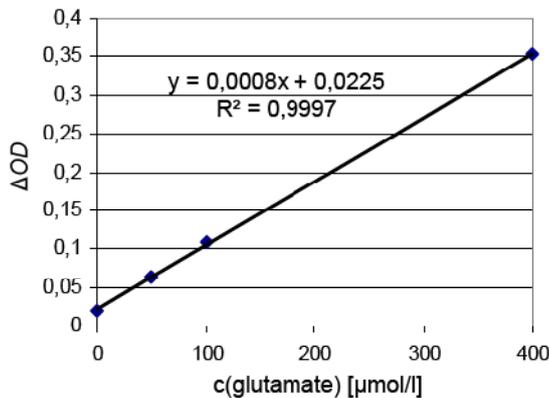
$$glutamate [\mu\text{mol/l}] = \frac{\Delta OD - \text{intercept}}{\text{slope}}$$

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 ± 2 x вариативность стандарта: 144 ± 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		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.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

ООО «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97
 г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.ua
 www.diameb.ua