



Набор ИФА для количественного определения сыворотке человека концентрации ФЕРРИТИНА

Кат. № : 1601Z
Количество : 96
Производитель : DAI (США)

Методика от 10-10-2009

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

ТОЛЬКО ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ IN VITRO

Анализ	Ferritin ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Конъюгированный пероксидазой ИФА
Диапазон обнаружения	0-800 нг/мл
Образец	20 мкл сыворотки
Специфичность	98,7 %
Чувствительность	5,0 нг/мл
Общее время	~ 80 мин.
Срок годности	12-14 мес.

ВВЕДЕНИЕ

Одно из наиболее распространенных заболеваний у людей является диетический дефицит железа и в следствии анемия. Поэтому, анализ железа, общей связывающей способности железа является клинически важным

Основными компонентами, что содержат железо есть гемоглобин, гемосидерин, миоглобин и цитохромы. В большинстве тканей, ферритин является основным железом-сохраняющим протеином. Человеческий ферритин имеет молекулярный вес приблизительно 450000 дальтон и состоит из протеиновой оболочки вокруг ядра железа; каждая молекула ферритина может содержать 4000 атомов железа. При нормальных условиях, он представляет 20% общего железа в теле человека. К тому же ферритин может иметь несколько изомеров.

Высокая концентрация ферритина обнаружена в цитоплазме ретикулэндотелиальной системы, печени, селезенке и костном мозге. Методы, что использовались для измерения железа в этих тканях, были инвазивные и приводили к травмам пациента и потери необходимой чувствительности.

Измерение ферритина в сыворотке используется в определении изменения в теле хранения железа и является неинвазивным при низком дискомфорте пациента. Уровень ферритина в сыворотке может измеряться вручную и частично используется при раннем определении железодефицитной анемии в очевидно здоровых людей.

Измерение ферритина в сыворотке является также важным при мониторинге статуса железа у беременных женщин, доноров крови и у пациентов с гемодиализом. Высокий уровень ферритина может указывать на перенасыщенность железа без видимых повреждений печени, а также при ранних стадиях идиопатического гемохроматозиса. Уровни ферритина в сыворотке также используются для оценки клинических условий, не связанных с содержанием железа, как воспаление, хронические заболевания печени и опухоли.

Данный тест предлагает быстрый, чувствительный и надежный анализ. Антитела, развитые для этого теста определяют минимальную концентрацию человеческого ферритина – 5 нг/мл. Минимальная перекрестная реактивность с альбумином человеческой сыворотки, альфа-фетопротеином, гемоглобином, трансферрином и хлорида железа.

ПРИНЦИП

Этот набор основан на принципе твердофазного иммуноферментного анализа. В нем используется анти-ферритин антитело для иммобилизации солидной фазы (микропланшетные лунки) и другое мышинное моноклональное анти-ферритин антитело в растворе конъюгата антитело-энзим (пероксидаза хрена).

Тестовый образец дает возможность одновременно реагировать с антителами, в результате молекулы ферритина будут в сэндвиче твердой фазой и энзимно-связанными антителами. После 60 минутной инкубации при комнатной температуре лунки промываются водой для удаления несвязанных меченных антител. Добавляется раствор ТМБ и инкубируется 20 минут, в результате происходит развитие голубого окраса. Развитие окраса останавливается добавлением стоп раствора и окрас изменяется на желтый и измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Концентрация ферритина прямо пропорциональна интенсивности окраса тестового образца.

Предназначение

Для количественного определения концентрации человеческого ферритина в сыворотке человека.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми антителом, 96 лунок в пакете.
- Набор референтных стандартов 0; 10; 50, 100, 400 и 800 нг/мл, готовые к использованию.
- Реагент ферментного конъюгата, 12 мл
- Субстрат ТМБ, 12 мл
- Стоп-раствор, 12 мл.
- Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

Требуемые, но не поставляемые материалы:

- Точные пипетки: 5-40 мкл и 0,05-0,2 мл.
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель (вортекс) или аналог.
- Промокательная бумага или бумажное полотенце.
- Бумага для построения графиков.
- Микропланшетный луночный считыватель.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотку необходимо приготовить из образцов цельной крови, полученных приемлемой медицинской технологией. Этот набор предназначен для образцов сыворотки без добавок.

ХРАНЕНИЕ НАБОРА

Не вскрытые наборы после получения следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем. Чтобы минимизировать попадание влажного воздуха. Набор анализа может использоваться в течении срока годности (Один год от даты производства). Срок годности указан на этикетке упаковки. Вскрытые наборы остаются стабильными до окончания срока пригодности при хранении согласно инструкции. Подходящим является микропланшетный считыватель с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-22°C).
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) в дистиллированной воде, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок в рамку для стрипов.
2. Внесите 20 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте 30 секунд. Очень важно добиться полного смешивания на этом этапе.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-25°C) 60 минут.
6. Удалите инкубационный раствор, вытряхнув содержимое планшета в контейнер для отходов.
7. Промойте и опустошите микролунки 5 раз промывочным буфером (1x).
8. Резко переверните лунки на промокательную бумагу для удаления оставшихся капель воды.
9. Внесите 100 мкл ТМБ субстрата в каждую лунку. Осторожно перемешайте 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре 20 минут в темноте.
11. Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку.
12. Осторожно перемешайте 30 секунд. **Важно убедиться, что голубой окрас изменился полностью на желтый.**

13. Считайте оптическую плотность при 450 нм микропланшетным считывателем в течении 30 минут.

Важные замечания:

1. Процедура промывания крайне важна. Недостаточное промывание приведет к завышенной абсорбции и неточным результатам.
2. Если значения образца составляют более 800 нг/мл – разбавить образцы **разбавителем образца** и анализировать их снова. Во избежание влияний матрицы **не использовать** другой раствор для разбавления образцов.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контролей и образцов. Постройте стандартную кривую, откладывая точки средней абсорбции стандартов на вертикальную ось Y, против соответствующих концентраций на горизонтальную ось X. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации ферритина в нг/мл из стандартной кривой. Разбавленные образцы должны быть скорректированы на фактор разбавления.

ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают со считыванием оптической плотности при 450 нм на оси Y по отношению к концентрациям ферритина на оси X. Пример построения калибровочной кривой приведен только в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета неизвестных значений. Каждый пользователь должен получить свои собственные данные и калибровочную кривую.

Ферритин (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0,0	0,003
10	0,093
50	0,401
100	0,714
400	1,995
800	2,963

Пример стандартной кривой смотрите в оригинале инструкции на англ. языке. Эта стандартная кривая только для иллюстрации и не должна использоваться для вычисления. Каждый пользователь должен строить собственную кривую.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ.

Рекомендуется, что в каждой лаборатории определяла собственные нормальные границы, принимая во внимание такие факторы окружающей среды, как диета, климат и т.д. Результаты представленные ниже базируются на ограниченном числе образцов крови здоровых взрослых пациентов. Минимальная чувствительность теста равна 5,0 нг/мл.

	Мужчины	Женщины
Число	80	90
Среднее (нг/мл)	170,0	71,0
Среднее (нг/мл)	32,0-501,0	3,5-223,5

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

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