

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕТА-СУБЪЕДИНИЦЫ ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА β -hCG

4201-16, β -HCG (Total)

Каталог. № : 4201-16
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 20-07-2016



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для количественного определения общего β -хорионического гонадотропина в сыворотке человека.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Данный набор является твердофазовым энзимно-связанным иммуносорбентным анализом. В анализе используется одно анти- β -hCG антитело для иммобилизации твердой фазы (микротитрационные ячейки) и мышиное моноклональное анти- β -hCG антитело в растворе антитело-энзим (пероксидаза хрена) конъюгата. Тестовый образец (сыворотка) добавляется к hCG антителу, привитому к микроячейкам, и инкубируется с нулевым буфером. Если антиген присутствует в образце, он связывается с антителом на ячейках. Потом ячейки промываются для удаления оставшегося тестового образца, и добавляется hCG антитело, меченное пероксидазой хрена (конъюгат). Конъюгат связывается иммунологически с β -hCG на ячейках, в результате чего молекулы β -hCG будут в сэндвиче между твердой фазой и энзимно-связанными антителами. После инкубации при комнатной температуре, ячейки промываются для удаления несвязанных антител. Добавляется раствор ТМВ и инкубируется на 20 минут, в результате происходит развитие синего окраса. Развитие цвета останавливается добавлением стоп раствора, цвет изменяется на желтый и измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Концентрация β -hCG прямо пропорциональна интенсивности цвета в образце.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотку получают из проб цельной крови, взятых подходящим способом. Набор предназначен для работы с образцами сыворотки без добавок.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми антителами.
- Набор стандартов, содержащих 0, 5, 20, 50, 150, 300 мМЕд/мл в образце, жидкие, готовые к использованию.
- Нулевой буфер, 12 мл
- Ферментный конъюгат, 18 мл.
- ТМВ субстрат, 12 мл.
- Стоп раствор, 12 мл.
- Концентрат промывочного буфера (50X), 15 мл.
- Набор контролей (дополнительно)

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Пипетки: 0,04~0,2 мл; 1.0 мл.
- Наконечники для пипеток.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель Vortex.
- Фильтровальная бумага или бумажное полотенце.
- Бумага для построения графиков.
- Микропланшетный ридер

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-22 °С).
2. Развести 1 часть концентрата Промывочного Буфера с 49 частями дистиллированной воды. Например, развести 15 мл Концентрата (50X) Промывочного Буфера в дистиллированной воде для приготовления 750 мл Промывочного Буфера (1X). Тщательно перемешать перед использованием.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок с антителами в рамку для стрипов.
2. Внесите 50 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите 100 мкл нулевого буфера в каждую ячейку.
4. Тщательно перемешайте 10 секунд. Очень важно достичь полного смешивания на этом этапе.
5. Инкубировать 30 минут при комнатной температуре (18-22°С).
6. Удалите содержимое лунок в раковину.
7. Промыть лунки 5 раз Промывочным Буфером (1X).
8. Перевернуть планшет и легко постучать им по листу фильтровальной бумаги или бумажного полотенца для удаления остатков жидкости.
9. Внесите 150 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Тщательно перемешайте содержимое лунок в течение 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 30 мин.
11. Удалите содержимое лунок в раковину.
12. Промыть лунки 5 раз Промывочным Буфером (1X).
13. Перевернуть планшет и легко постучать им по растленному листу фильтровальной бумаги или бумажного полотенца для удаления остатков жидкости.
14. Внесите 100 мкл раствора ТМБ в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 5 секунд.
15. Инкубируйте при комнатной температуре в темном месте в течении 20 минут.
16. Остановите реакцию внесением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку.
17. Аккуратно перемешивайте на протяжении 5-30 секунд до смены окраски раствора на желтую.
18. Используя ридер для планшетов, измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм на протяжении 15 минут.

Внимание:

Процедура промывки имеет большое значение. При недостаточно тщательном промывании результаты будут неточными, и уровень поглощения будет завышен.

РАСЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассчитать средние значения поглощения (A_{450}) для каждого стандарта, контрольных сывороток и образцов. На бумаге для графиков построить калибровочную кривую, откладывая на вертикальной оси (Y) значение поглощения для каждого стандарта против его концентрации в мМЕд/мл на горизонтальной оси (X). С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию β -hCG в мМЕд/мл.

Пример построения калибровочной кривой

Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета концентраций HCG в пробах.

β -hCG (мМЕд/мл)	Поглощение (450 нм)
0	0,063
5	0,120
20	0,269
50	0,581
150	1,503
300	2,624

Пример стандартной кривой (См. оригинал инструкции).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Каждая лаборатория должна установить собственные нормальные границы, соответственно популяции ХГЧ нормально определяется в образце здоровых мужчин или здоровых небеременных женщин. Концентрация ХГЧ в сыворотке беременных женщин увеличивается до 5-50 мМЕд/мл одну неделю после имплантации и продолжает расти во время первых десяти недель, достигая 100000 – 200000 мМЕд/мл в конце первого триместра. Минимально определяемая концентрация ХГЧ в этом анализе равна 2,0 мМЕд/мл.

ХРАНЕНИЕ НАБОРА

Как не вскрытый, так и вскрытый набор следует хранить при 2-8 °С, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Вскрытый набор остается стабилен до окончания срока пригодности при хранении согласно инструкции. Подходящим является микропланшетный ридер с шириной размаха 1 нм или меньше и оптической плотностью 0-3 ОП или выше при длине волны 450 нм.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Есть некоторые ограничения при проведении анализа. Мы должны позволить нашим клиентам знать об этом.

- 1) Как и во всех диагностических тестах, определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, но должен быть поставлен только врачом после того, как все клинические и лабораторные результаты были оценены.
- 2) Исследования подразумевали возможную интерференцию ревматоидного фактора и антинуклеарных антител в результатах иммунологического анализа у некоторых пациентов. Образцы сыворотки пациентов, которые получили инъекции, содержащие мышинные моноклональные антитела в диагностических или терапевтических целях, могут содержать антитела к белкам мыши (НАМА). Хотя мы добавили несколько агентов, чтобы избежать интерференции, мы не можем гарантировать, чтобы все последствия этого были устранены.



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
www.diameb.com