

- Реагенти набору містять 2-хлорацетамід в якості консерванту. 2-хлорацетамід є шкідливим при контакті з шкірою та токсичний при ковтанні. У разі нещасного випадку або якщо ви почуваетесь погано, зверніться до лікаря негайно.
- ТМБ субстрат чутливий до світла, тримайте подалі від яскравого світла. Розчин повинен бути безбарвним до використання.
- Стоп-розчин містить 2% щавлеву кислоту і може викликати подразнення або опіки дихальної системи, шкіри та очей. Прямого контакту із шкірою та очима слід суворо уникати. Якщо виникає контакт, негайно прополоскати водою з великою кількістю води та звернутись за медичними порадами.
- Часи інкубації, температура інкубації та об'єми піпетування, крім тих, що вказані, можуть дати помилкові результати.
- Не використовуйте мікролунки повторно і не виливайте реагенти назад в пляшки.
- Поводитись з біологічними зразками як з потенційно небезпечними та такими, що здатні передавати хвороби.
- Гемолітичні, гіперліпемічні, термічно оброблені або забруднені зразки можуть давати помилкові результати.
- Використовуйте поліпропіленові пробірки для підготовки стандарту та зразків. Не використовувати полістирольні пробірки або пластини для зразків.

7. ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Збір та обробка

Сироватка або плазма

Проведіть збір крові з використанням звичайних асептичних методів. Зразки крові слід зберігати на льоду. Якщо використовується сироватка, відокремте сироватку від крові після згортання при кімнатній температурі протягом 1 години центрифугуванням (1500xg при 4 °C протягом 15 хвилин). Перенесіть сироватку в нову поліпропіленову пробірку. Якщо використовується плазма, відокремте плазму від крові протягом 20 хвилин після забору крові шляхом центрифугування (1500xg при 4 °C протягом 15 хвилин). Перенесіть плазму в нову поліпропіленову пробірку. Найбільш надійні результати отримують, якщо використовується плазма EDTA.

Сеча

Проведіть збір крові з використанням звичайних асептичних методів. Центрифугуйте сечу для видалення сторонніх речовин (1500xg при 4 °C протягом 15 хв). Перенесіть сечу в нову поліпропіленову пробірку.

Зберігання

Зберігайте зразки нижче -20 °C, переважно при -70 °C в поліпропіленових пробірках. Зберігання при температурі -20 °C може вплинути на відновлення sCD14 людини. Використовуйте зразки протягом 24 годин після відтавання. Уникайте кількох циклів заморожування-розморожування, які можуть спричинити втрату активності sCD14 людини і дати помилкові результати.

Не використовуйте гемолізовані, гіперліпемічні, термічно оброблені або забруднені зразки.

Перед виконанням аналізу зразки повинні бути доведені до кімнатної температури (18-25 °C) і обережно змішані. Перед початком процедури аналізу необхідно підготувати всі зразки (контролі та тестові зразки). Уникайте спінювання.

Процедури розведення

Зразки сироватки або плазми

sCD14 людини можна точно виміряти, якщо зразки розбавляють щонайменше 80x з наданим буферним розчином у поліпропіленових пробірках.

Зверніть увагу, що найбільш надійні результати отримуються з плазмою EDTA.

Зауваження щодо рекомендованого розведення зразка

Вказане розведення для зразків - це мінімальне розведення, і його слід використовувати як керівний принцип. Відновлення sCD14 людини з нерозбавленого зразка не становить 100% і може відрізнитися від зразка до зразка. Під час випробування менш розбавлених зразків доцільно проводити експерименти з відновлення, щоб визначити вплив матриці на виявлення sCD14 людини.

Не використовуйте полістирольні пробірки або пластини для зразків для підготовки або розведення зразків.

8. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Перед використанням дозвольте всім реагентам досягти кімнатної температури (20-25 °C). Повернути у відповідні умови зберігання відразу після використання.

Промивний буфер

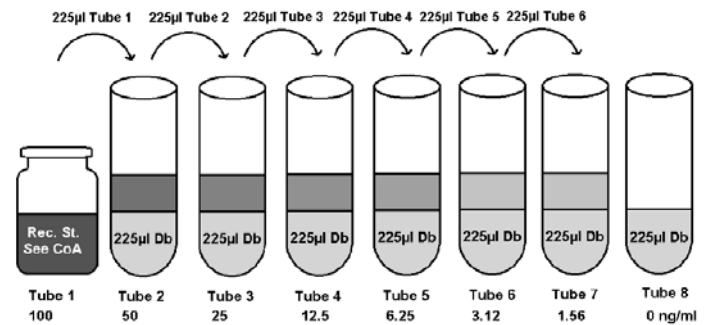
Підготувати промивний буфер змішуванням 30 мл 40x концентрованого промивного буферу з 1170 мл дистильованої або деіонізованої води, що достатньо для 2 x 96 тестів. У випадку, якщо потрібен менший об'єм, підготуйте бажаний об'єм промивного буфера, розбавляючи 1 частину 40x промивного буфера з 39 частинами дистильованої або деіонізованої води.

Буфер для розведення

Підготувати буфер для розведення, змішуючи 15 мл 10x буферу для розведення з 135 мл дистильованої або деіонізованої води, що достатньо для 2 x 96 тестів. У випадку необхідності меншого об'єму готують бажаний об'єм буферу для розведення, розбавляючи 1 частину 10x буферу для розведення з 9 частинами дистильованої або деіонізованої води. Концентрований буфер для розведення може містити кристали. У випадку, якщо кристали не зникають при кімнатній температурі протягом 1 години, концентрований буфер для розведення можна нагріти до 37 °C. Не трясати розчин.

Стандартний розчин

Стандарт відновлюють шляхом піпетування кількості буферу для розведення, згаданого в CoA, у флакон для стандарту. Використовуйте флакон зі стандартом, як Пробірку 1 на малюнку 1. Підготуйте кожний стандарт sCD14 людини у поліпропіленових пробірках шляхом серійного розбавлення відновленого стандарту з буферним розчином, як показано на Малюнку 1*. Після відновлення стандарт не можна зберігати для повторного використання.



Малюнок 1

* CoA: Сертифікат аналізу, Rec. St: Відновлений Стандарт, Db: Буфер для розведення

Трейсерний розчин

Трейсер відновлюють шляхом піпетування 1 мл дистильованої або деіонізованої води. Розбавте відновлений 1 мл трейсера з 11 мл буферного розчину, що достатньо для 1 x 96 тестів. У випадку, якщо потрібно менше об'єму, підготуйте бажаний об'єм трейсера, розбавляючи 1 частину відновленого трейсера з 11 частинами буферу для розведення.

Розчин стрептавідин-пероксидази

Стрептавідин-пероксидазу відновлюють піпетуванням 0.25 мл 100x розчину стрептавідин-пероксидази з 24.75 мл буферного розчину, що достатньо для 2x96 тестів. У випадку, коли потрібен менший об'єм, готують необхідний об'єм розчину стрептавідин-пероксидази, розбавляючи 1 частину 100x стрептавідин-пероксидази з 99 частинами буферу для розведення.

9. ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ

Перед використанням довести всі реагенти до кімнатної температури (20-25 °C).

1. Визначити кількість необхідних тестових лунок, помістити необхідні смужки в рамку та заповнити лист збору даних. Повернути невикористані смужки на зберігання; зберігати при температурі від 2 до 8 °C.
2. Внести по 100 мкл у двох примірниках стандарту, зразків або контролів в відповідні лунки. Не торкатись боків або дна лунок.
3. Накрити лоток і постукати по ньому, щоб видалити будь-які повітряні бульбашки. Будьте обережні, щоб не забризкати кришку.
4. Інкубувати смужки або пластину протягом 1 години при 37 °C.
5. Промити пластини 4 рази промивним буфером використовуючи планшетний вошер або наступним чином*:
 - a. Обережно зняти кришку, уникаючи розбризкування.
 - b. Видалити вміст пластини перевертанням та витрушуванням вмісту над раковиною, тримати перевернутою інверсією та просушити на товстий шар серветок.
 - c. Додати 200 мкл буферу для промивання в кожну лунку, зачекати 20 секунд, видалити вміст пластини як описано в 5b.
 - d. Повторити процедуру промивання 5b/5c тричі.

- е. Видалити вміст пластини і обережно потрусити на товстий шар серветок.
6. Додати 100 мкл розбавленого трейсера в кожну лунку, використовуючи той самий порядок, який застосовано в кроці 2. Не торкатись боків або дна лунок.
 7. Накрити лоток та інкубувати його протягом 1 години при кімнатній температурі.
 8. Повторити процедуру промивання, описану в кроці 5.
 9. В кожну лунку внести по 100 мкл розведеної стрептавідин-пероксидази, використовуючи той самий спосіб піпетування, який застосовано в кроці 2. Не торкатись боків або дна лунок.
 10. Закрити лоток та інкубувати лоток протягом 1 години при кімнатній температурі.
 11. Повторити процедуру промивки, описану в кроці 5.
 12. В кожну лунку внести 100 мкл субстрату ТМБ, використовуючи той самий порядок внесення, який застосовується в кроці 2. Не торкатись боків або дна лунок.
 13. Накрити лоток та інкубувати його протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Уникати впливу на смужки прямого сонячного світла. Рекомендується покривати пластину алюмінієвою фольгою.
 14. Зупинити реакцію, додаючи 100 мкл стоп-розчину з тією ж послідовністю та термінами, які використовуються в кроці 12. Ретельно перемішати розчини в лунках, обережно повертаючи пластину. Обережно постукати по пластині, щоб уникнути будь-яких повітряних бульбашок, що потрапили в лунки.
 15. Зчитати планшет протягом 30 хвилин після додавання стоп-розчину при 450 нм за допомогою рідера, дотримуючись інструкцій, наданих виробником приладу.

*) У випадку використання планшетного вошера, зверніть увагу: використання планшетного вошера може призвести до завищення значень фону і зниження чутливості. Ми радимо перевірити планшетний вошер з ручною процедурою. Переконайтеся, що планшетний вошер використовується як вказано для ручного методу. Додатковий промивний буфер можна замовити окремо. Зверніться до свого місцевого дистриб'ютора.

10. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

- Обчислити середню абсорбцію для кожного набору дублікатів стандартів, контролю та зразків.
- Якщо окремі значення абсорбції відрізняються більше ніж на 15% від відповідного середнього значення, результат вважається недійсним, і зразок має бути повторно перевірений.
- Середнє поглинання нульового стандарту повинно бути менше 0,3.
- Побудувати стандартну криву, використовуючи комп'ютерне програмне забезпечення. Середнє поглинання для кожної концентрації стандарту відкладається на вертикальній (Y) осі проти відповідної концентрації на горизонтальній (X) осі (логарифмічна шкала).
- Якщо зразки були розбавлені, концентрація, прочитана зі стандартної кривої, повинна бути помножена на коефіцієнт розведення.
- Зразки, які дають середню абсорбцію вище абсорбції для найвищої стандартної концентрації, не входять в діапазон аналізу. Ці зразки повинні бути аналізовані повторно при більш високому розведенні.

11. ТЕХНІЧНІ ПОРАДИ

- Користувач повинен бути підготовлений і знайомий з ІФА та процедурою випробувань.
- Якщо ви не знайомі з технікою ІФА, рекомендується виконати пробний аналіз до тестування зразків. Проводити аналіз зі стандартною кривою тільки згідно з інструкціями.
- Неправильна або недостатня промивка на будь-якій стадії процедури призведе або до хибно позитивних, або хибно негативних результатів. Повністю видалити вміст лунок перед внесенням промивного буфера, заповнювати промивним буфером, як зазначено для кожного циклу і не дозволяти лункам залишатися непокритими або сухими протягом тривалого періоду.
- Оскільки певні умови можуть відрізнятися від аналізу до аналізу, стандартна крива повинна бути побудована для кожного аналізу. Зразки слід перевіряти зі стандартної кривої, підготовленої на тій же пластині.
- Не змішувати реагенти з різних партій або з іншими реагентами і смужками. Залишки не слід змішувати з вмістом щойно відкритого флакону.
- Кожен раз, коли набір використовується, свіжі розведення стандарту, зразка, індикатора, стрептавідин-пероксидази і буферів повинні бути приготовлені.
- Ковпачки та флакони не є взаємозамінними. Ковпачками закривати тільки відповідні флакони.
- Щоб уникнути перехресного забруднення, міняти наконечники для додавання реагентів для кожного стандарту, між додаванням зразків,

а також між додаванням реагенту. Крім того, використовуйте окремі резервуари для кожного реагенту.

- Утилізація відходів повинна проводитися відповідно до правил лабораторії.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Сертифікат контролю якості, що поставляється з набором, є специфічним для партії і використовується для перевірки результатів, отриманих вашою лабораторією. Значення поглинань, зазначених в Сертифікаті контролю якості, будуть використовуватися тільки в якості орієнтира. Результати, отримані Вашою лабораторією, можуть відрізнятися.

Цей тест призначений для усунення інтерференцій від розчинних рецепторів, зв'язуючих білків, і інших чинників, присутніх в біологічних зразках. До тих пір, поки всі фактори не будуть протестовані імуноферментним аналізом Hycult Biotech, можливості інтерференції не можуть бути виключені.

Для оптимальної роботи даного набору рекомендується дотримуватись належної лабораторної практики.

13. УСУНЕННЯ ПРОБЛЕМ

Гарантійні претензії та скарги щодо недоліків необхідно пред'являти до закінчення терміну придатності продукту. Письмову скаргу, яка містить номер партії товару і експериментальні дані, відправити на електронну адресу support@hycultbiotech.com.

Пропозиції, наведені нижче в таблиці 2, можуть бути використані тільки в якості орієнтира в разі несподіваних результатів аналізу.

Низька абсорбція	Висока абсорбція	Слабкі копії	Всі лунки позитивні	Всі лунки негативні	Можлива причина
•	•		•	•	Матеріали набору або реагенти забруднені або закінчився їх термін придатності
•					Використовуються неправильні реагенти
•		•	•		Ліофілізовані реагенти не відновлені як слід
•	•	•	•	•	Некоректні розведення або помилки піпетування
•		•			Невідповідні пластикові матеріали використовувалися для підготовки стандарту і/або зразків
•	•				Помилковий час інкубації або температура
		•			Особливо в разі інкубації при 37 °C: пластини не інкубували рівномірно
•					Аналіз проводився раніше, ніж реагенти були приведені до кімнатної температури
•	•	•	•	•	Не дотримувалася процедура тестування
				•	Пропущений реагент або крок
		•			Погане перемішування зразків
	•		•		Низька якість води
		•	•		Смужки залишилися незволоженими занадто довго під час/після промивання
	•	•	•		Погана промивка
	•	•	•		Перехресне забруднення від інших зразків або позитивного контролю
		•	•		ТМВ розчин непрозорий або безбарвний
•	•				Невірний фільтр в зчитувальному пристрої мікропланшетів
	•	•			Повітряні бульбашки
		•			Неточне запечатування планшета після використання
•					Неправильні умови зберігання
•					Лампа в зчитувальному пристрої не функціонує оптимально



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com