



## Набор ИФА для определения БЕТА-2 МИКРОГЛОБУЛИНА

Кат. № : EIA-1789  
Кол-во тестов : 96  
Производитель : DRG (Германия)

Методика от 26-07-2010  
Версия 1.0

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

### НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения концентрации  $\beta$ 2-микроглобулина в человеческой сыворотке.

### ВВЕДЕНИЕ

Человеческий  $\beta$ 2-микроглобулин (B2MG) является 11,8 кДа протеин, идентичный легкой цепи HLA-A, -B, -C антигена. B2MG выражается в ядерных клетках и обнаружен при низких уровнях в сыворотке и моче нормальных индивидов. Концентрация B2MG увеличивается при воспалительных заболеваниях, некоторых вирусных заболеваниях, нарушении работы почек и аутоиммунных заболеваниях. Численные публикации описывают интерпретацию уровней B2MG в сыворотке при оценке статуса индивидов при разных клинических условиях.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор DRG B2MG ELISA базируется на принципе твердофазового ферментно-связанного иммуносорбентного теста. Система набора использует моноклональное антитело, направленное против дистриктивной антигенной детерминанты на интактной B2MG молекуле. Мышиное моноклональное анти- B2MG антитело используется для иммобилизации твердой фазы (на ячейках). Овечье анти-B2MG антитело присутствует в антитело-энзим (пероксидаза хрена) растворе конъюгата. Разбавленный тестовый образец реагирует сначала с иммобилизованным антителом 30 минут при 37°C. Овечий анти-B2MG-HRPO конъюгат потом добавляется и реагирует с иммобилизованным антигеном 30 минут при 37°C, в результате чего молекулы B2MG будут захватываться между твердой фазой и энзим-связанными антителами. Ячейки промываются для удаления несвязанных меченных антител. Раствор ТМВ реагента добавляется и инкубируется 20 минут при комнатной температуре, в результате развивается голубой окрас. Развитие окраса останавливается добавлением стоп раствора, что изменяет цвет на желтый. Концентрация B2MG прямо пропорциональна интенсивности окраса тестового образца. Абсорбция измеряется спектрофотометрически при 450 нм.

### РЕАГЕНТЫ

#### Поставляемые материалы:

- Планшетка на 96 лунок, покрытых мышиным моноклональным анти- B2MG антителом;
- Стандарты, содержащие 0, 0,625, 1,25, 2,5, 5 и 10 мкг/мл B2MG 1 набор, предварительно 101 кратно разбавленные;
- Разбавитель образцов, 100 мл;
- Ферментный конъюгат, 22 мл;
- ТМВ-реагент (один этап), 11 мл;
- Стоп раствор (1N HCl), 11 мл

#### Необходимые, но не поставляемые материалы.

- пипетки на 10, 20, 100, 200 мкл и 1,0 мл;

- сменные наконечники к пипеткам;
- дистиллированная вода;
- вортекс или аналогичный смеситель;
- абсорбирующая бумага;
- графическая бумага;
- микропланшетный ридер.

### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ.

1. Кровь необходимо собрать стандартной венопункцией и необходимо отделить сыворотку от красных кровяных клеток как можно быстрее. Избегайте сильно гемолизированной, липидной или мутной сыворотки.
2. Образцы необходимо накрыть и они могут храниться до 48 часов при 2-8°C до начала анализа. Образцы при более длительном периоде хранения необходимо заморозить до -20°C и они могут храниться до 6 месяцев. Оттаявшие образцы необходимо вращать несколько раз.
3. Соберите образцы мочи и храните при 2-8°C до 5 дней или до -20°C более длительный период. Образцы мочи разбавляются 1:10, добавлением 50 мкл мочи к 450 мкл разбавителя образца. Используйте ту же процедуру, что и для сыворотки.

### ХРАНЕНИЯ

Незакрепленные наборы должны храниться при 2-8°C в запечатанном виде вместе с десикантом. Открытые наборы останутся стабильными до окончания даты годности при условии правильного хранения. Можно использовать микротитровальный планшетный считыватель с пропускной способностью 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или больше, при 450 нм.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием все реагенты должны быть приведены к комнатной температуре (18-25°C). Все реагенты нужно аккуратно смешать перед использованием. Не допускайте пенообразования.
2. Разбавьте лиофилизированные стандарты 1,0 мл дистиллированной воды. Оставьте их на 20 минут и мягко смешайте. Разбавленные стандарты останутся стабильными 30 дней при 2-8°C.

### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. **Образцы сыворотки, плазмы и контрольной сыворотки необходимо развести перед использованием для получения лучших результатов. Приготовьте серии маленьких пробирок (как 1,5 мл микроцентрифужных пробирок) и смешайте 10 мкл сыворотки и 1,0 мл разбавителя образца (101-кратное разбавление). Не разбавляйте стандарты, они уже разбавлены 101 кратно.**
2. Поместите необходимое количество стрипов в держатель.
3. Пипеткой внесите 20 мкл стандартов, разбавленных образцов и разбавленных контролей в соответствующие лунки планшета.
4. Добавьте 200 мкл разбавителя образца в каждую лунку.
5. Тщательно перемешайте на протяжении 30 сек. Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
6. Инкубируйте течение 30 минут при 37°C.
7. Вытряхните содержимое лунок.
8. Промойте дистиллированной или деионизированной водой 5 раз (не используйте воду из-под крана).
9. Резко встряхните планшет над фильтровальной бумагой и промокните остатки влаги.
10. Добавьте 200 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Легко смешивайте 10 секунд.
11. Инкубируйте 30 минут при 37°C.
12. Удалите инкубационную смесь и промойте, как описано в шагах 7, 8, 9.

13. Добавьте **100 мкл** ТМВ реагента в каждую лунку.
14. Легко смешивайте 10 секунд.
15. Инкубируйте течение **20 минут** при комнатной температуре в темноте.
16. Добавьте **100 мкл** стоп реагента в каждую лунку.
17. Легко смешивайте **10 секунд. Очень важно, чтобы весь голубой цвет стал желтым.**
18. Измерьте оптическую плотность ячеек при **450 нм** микротитровальным луночным считывателем в течении **15 минут**.

#### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ СЫВОРОТКИ И ПЛАЗМЫ.

1. Вычислите среднее значение абсорбции (A450) для каждого набора стандартов, контролей и образцов.
2. Постройте стандартную кривую, отмечая среднее значение абсорбции, полученное из каждого стандарта напротив его концентрации в мкг/мл на графической бумаге, отметьте точки значений абсорбции на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X.
3. Используйте среднее значение абсорбции для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации B2MG в мкг/мл со стандартной кривой.

#### ПРОЦЕДУРА ТЕСТА ДЛЯ ОБРАЗЦОВ МОЧИ

1. Образцы мочи необходимо 10 кратно разбавить разбавителем образцов (напр. 50 мкл мочи + 450 мкл разбавителя образцов).
2. Следуйте схеме процедуры для тестирования сыворотки / плазмы (шаг 2-18).

#### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ МОЧИ

1. Вычислите среднее значение абсорбции (A450) для каждого набора стандартов, контролей и образцов.
2. Постройте стандартную кривую, отмечая среднее значение абсорбции, полученное из каждого стандарта напротив его концентрации в мкг/мл на графической бумаге, отметьте точки значений абсорбции на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X.
3. Используйте среднее значение абсорбции для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации B2MG в мкг/мл. Разделите вычисленное значение на 10,1 (Поскольку B2MG стандарты были предварительно разбавлены 101 кратно, результаты, полученные для образцов мочи должны быть разбавлены 10,1). Например, если вычисленная величина для образцов мочи из стандартной кривой равна 2,40 мкг/мл, то реальное значение будет 2,40 мкг/мл, то настоящее значение будет 2,40 мкг/мл :10,1 = 0,238 мкг/мл.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Надежные и воспроизводимые результаты анализа можно получить только в случае проведения процедуры в соответствии с инструкцией и соблюдения правил лабораторной практики.
2. Процедура промывания крайне важна. Недостаточное промывание приведет к потере точности и ложно завышенным считываниям абсорбции.
3. Не следует использовать для анализа образцы сыворотки с высокой липемией, высоким гемолизом или мутностью.
4. Результаты анализа, проведенного с помощью данного набора, должны использоваться только как дополнение к другим диагностическим процедурам и служить информативным источником для врача.

#### ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения абсорбции стандартов при 450 нм показаны на оси Y против значений концентрации B2MG на оси X. Каждый пользователь должен установить свои собственные данные и стандартную кривую.

B2MG (мкг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,052
0,625	0,377
1,25	0,745
2,5	1,414
5,0	2,085
10,0	2,942

#### ПРИМЕР КРИВОЙ СМОТРИТЕ В ОРИГИНАЛЬНОЙ ИНСТРУКЦИИ

#### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Здоровые индивиды имели значение B2MG в сыворотке или плазме 0-2,0 мкг/мл и значение в моче 0-0,3 мкг/мл. Минимально определяемая чувствительность установлена 0,1 мкг/мл.

#### 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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)