



**Набор ИФА**  
**для количественного определения в**  
**сыворотке человека**  
**БЕТА-2 МИКРОГЛОБУЛИНА**

**Кат. №** : 4200Z  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DAI (США)

*Методика от 07-10-2009*

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

<b>Анализ</b>	Beta-2 Microglobulin
<b>Метод</b>	Ферментно-связанный иммуносорбентный
<b>Принцип</b>	Конкурентный ИФА, конъюгированный пероксидазой
<b>Диапазон обнаружения</b>	0-20 пг/мл
<b>Образец</b>	10 мкл сыворотки
<b>Специфичность</b>	96%
<b>Чувствительность</b>	0,5 пг/мл
<b>Общее время</b>	~ 80 мин.
<b>Срок годности</b>	12-14 мес.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАСТОЯЩЕГО НАБОРА**

Данный анализ используется для измерения бета-2 микроглобулина в сыворотке в целях диагностики активного ревматоидного артрита и почечных заболеваний.

**ВВЕДЕНИЕ**

Человеческий бета-2 микроглобулин (В2МГ) является протеином, весом 11,8 кДальтон, идентичным цепи HLA-A, -B и -C антигена. В2МГ выражается ядерными клетками и он обнаружен при низких концентрациях в сыворотке и моче в нормальных индивидов. Концентрация В2МГ увеличивается при воспалительных заболеваниях, некоторых вирусных болезнях, нарушении почечной деятельности и аутоиммунных заболеваниях. Доступно множество публикаций, объясняющих интерпретацию уровня В2МГ в сыворотке согласно клиническому состоянию индивидов. Иммуоферментный метод дает возможность количественного определения В2МГ в сыворотке. В этом методе, В2МГ в образце связывается с доступным избытком моноклональных антител против В2МГ, что иммобилизованы к поверхности микропланшетной ячейки. После шага промывания для удаления всех инородных веществ, количественное определение связанного В2МГ проводится добавлением энзимом (пероксидаза хрена или HRPO) меченного антитела, что также связывается с В2МГ. Количество связанного энзима прямо пропорционально содержанию В2МГ. Субстрат потом конвертирует в хромогенный состав, который определяется фотометрически при 450 нм.

**МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ**

**Материалы, входящие в состав набора:**

- Планшет с лунками, покрытыми антителами анти-бета-2 МГ, 96 лунок.
- Разбавитель образцов, 100 мл
- Реагент ферментного конъюгата, 22 мл
- Набор референтных стандартов 1 набор, жидкие, готовы к использованию.
- Субстрат ТМБ, 12 мл
- Стоп-раствор, 12 мл.
- Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

**Материалы, не входящие в состав поставки:**

- Точные пипетки и наконечники: 0,5-10 мкл, 0,05-0,2 мл, 1 мл.
- Дистиллированная вода.
- Сменные наконечники для пипеток
- Вортекс
- Абсорбирующая бумага или бумажное полотенце.

- Микропланшетный ридер
- Бумага для построения графиков.

**СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ**

1. Образцы следует собирать при стандартной технике венопункции и отделить сыворотку от красных клеток крови как можно быстрее. Избегайте высоко гемолизированных, липемических или мутных образцов.
2. Образцы плазмы, собранные в пробирки, содержащие EDTA, гепарин или оксалат, могут влиять на процедуру анализа и их следует избегать.
3. Образцы должны быть закрытыми и могут храниться до 48 часов при 2-8°C до начала анализа. Для более длительного хранения (до 6 месяцев) образцы необходимо заморозить до -20°C. Размороженные образцы необходимо перевернуть несколько раз для перемешивания перед анализом.

**ХРАНЕНИЕ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ**

Как не вскрытый, так и вскрытый набор следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Вскрытый набор стабилен до окончания срока пригодности, при хранении как описано выше. Микропланшетный ридер с шириной полосы 10 нм или меньше и оптической плотностью в границе 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм подходящий для измерения абсорбции.

**ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ**

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-22°C) и смешайте легким переворачиванием или вращением. **ИЗБЕГАЙТЕ ОБРАЗОВАНИЯ ПЕНЫ!**
2. Разбавьте 1 объем промывочного буфера (50x) 49 объемами дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл промывочного буфера (50x) в дистиллированной воде чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

**ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА**

1. И образцы сыворотки пациента и контрольная сыворотка должна быть разбавлена перед использованием для лучших результатов. **Приготовьте серию маленьких пробирок (таких как микроцентрифужные пробирки 1,5 мл) и смешайте 10 мкл сыворотки с 1,0 мл разбавителя образца (101 кратное разбавление). Не разбавляйте стандарты: они уже разбавлены.**
2. Поместите необходимое количество покрытых лунок в держатель. Внесите 5 мкл В2МГ стандартов, разбавленных образцов и разбавленных контролей в соответствующие ячейки. Внесите 200 мкл разбавителя образцов. Легко смешайте 10 секунд. Инкубируйте при 37°C 30 минут.
3. Удалите инкубационный раствор. Промойте и опустошите планшет 5 раз промывочным буфером 1x. Переверните планшет резко на абсорбирующую бумагу для удаления оставшихся водяных капель.
4. Внесите 200 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Легко смешайте 10 секунд. Инкубируйте при 37°C 30 минут. Удалите содержимое и промойте планшет как описано в п. 3.
5. Внесите 100 мкл ТМБ раствора в каждую лунку. Легко смешайте 10 секунд. Инкубируйте в темноте при комнатной температуре 20 минут.
6. Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку. Легко смешайте 10 секунд. **Важно добиться, чтобы синий цвет изменился на желтый полностью.** Считайте оптическую плотность при 450 нм микропланшетным ридером в течении 15 минут.

**Важное примечание:**

1. Процедура промывания критична. Неточное промывание приведет к завышенной абсорбции и неточным результатам.
2. Рекомендуется использовать не более 32 лунок в одном анализе при ручном пипетировании, поскольку пипетирование всех стандартов, образцов и контролей должно занимать не более 5 минут. Полный планшет на 96 лунок может использоваться при автоматическом пипетировании.
3. Дублирование всех стандартов и образцов, хотя не обязательно, но рекомендуется.

**ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Вычислите среднюю абсорбцию для каждого набора установленных стандартов В2МГ, образцов и контролей. Постройте стандартную кривую, откладывая среднюю абсорбцию стандартов против их концентрации в мкг на мл на графической бумаге, при значении абсорбции на оси Y и значениями концентрации на оси X. Оптимальная кривая для программирования анализа является

квадратическая. Используйте среднюю абсорбцию для каждого образца для определения соответствующей концентрации В2МГ в мкг/мл со стандартной кривой. Рекомендуется, что 6 образцы анализировались в дубликаты. **Поскольку, В2МГ стандарты уже разбавлены 101-кратно, нет необходимости умножать образцы и контроли на фактор разбавления.**

#### Пример калибровочной кривой

Результаты типичного стандартного анализа с оптической плотностью при 450 нм указанной на оси Y и концентрацией на оси X. Эта стандартная кривая только для иллюстрации и не должна использоваться для вычисления неизвестных. Каждый пользователь должен получить свои собственные данные и стандартную кривую.

В2МГ (мкг/мл)	Поглощение (450 нм)
0	0,040
0,5	0,344
2,0	1,035
5,0	1,930
10,0	2,599
20,0	3,394

#### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Величина В2МГ здоровых индивидов ожидается ниже 2,0 мкг/мл.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Надежные и соответствующие результаты будут получены при полном соответствии проведенной процедуры инструкции анализа и при хорошей лабораторной практике.
2. Промывание – критический момент. Неточное промывание приведет к неточным результатам и завышенной абсорбции.
3. Гетерофильные антитела, такие как анти-мышинные антитела (НАМА) часто обнаружены в человеческой сыворотке. Эти антитела могут влиять на результаты. Этот анализ разработан для минимизирования этого влияния. Но полное исключение этого влияния нельзя гарантировать. Результаты, что не соответствуют клинической картине и истории пациента должны интерпретироваться внимательно.

#### 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)