

# НАБІР ІФА ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ β<sub>2</sub>-МІКРОГЛОБУЛІНУ

## ORG 5BM, β<sub>2</sub>-Microglobulin

Каталог. №: **ORG 5BM**

Методика від 01-2011

Кількість : **96**

Виробник : **ORGENTEC GmbH,**  
(Німеччина)



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

### ПРИЗНАЧЕННЯ

Справжній набір використовує принцип непрямого твердофазного ІФА - ELISA. Він розроблений для кількісного визначення β<sub>2</sub>-мікроглобуліну в сироватці, плазмі або сечі людини. Аналіз призначений тільки для діагностики in-vitro для діагностики лімфатичних захворювань і захворювань нирок.

### КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ (Див. оригінал інструкції).

### ПРИНЦИП ТЕСТУ

Високоочищений антилюдський β<sub>2</sub>-мікроглобулін привитий в мікролунокках. β<sub>2</sub>-мікроглобулін, якщо присутній в розведеній сироватці, плазмі або сечі, зв'язується з відповідним антитілом. Промивання мікролунок видаляє неспецифічні компоненти сироватки або плазми. Анти-людський β<sub>2</sub>-мікроглобулін, кон'югований пероксидазою хрому, імунологічно зв'язується зі зв'язаним β<sub>2</sub>-мікроглобуліном пацієнта, формуючи кон'югат-антитіло-антиген комплекс. Промивання мікролунок видаляє незв'язаний кон'югат. Ензимний субстрат при присутності зв'язаного кон'югата гідролізується до формування блакитного забарвлення. Додавання кислоти зупиняє реакцію, формуючи жовтий кінцевий продукт. Інтенсивність цього жовтого кольору фотометрично вимірюється при 450 нм. Кількість забарвлення прямо пропорційна концентрації β<sub>2</sub>-мікроглобуліну, присутнього у зразку.

### ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Всі реагенти набору призначені тільки для діагностики in vitro.
2. Не змішуйте компоненти наборів з різних лотів.
3. Компоненти набору містять матеріали людського походження, які протестовані методами, схваленими FDA, на відсутність антитіл до гепатиту В і ВІЛ. Однак, жоден метод не може гарантувати, що продукти людського походження не інфіковані. Отже, з реагентами та зразками сироватки слід поводитись як з потенційно інфекційно небезпечними.
4. Уникайте контакту з ТМБ (3,3', 5,5' - Тетраметилбензидином). Якщо ТМБ потрапив на шкіру, ретельно вимийте водою з милом.
5. Стоп розчин містить кислоту. Якщо розчин потрапив на шкіру, ретельно промийте водою і зверніться до лікаря.
6. Деякі компоненти набору (напр., Контролі, буфер зразків і буферний миючий розчин) містять азид натрію в якості консерванту. Азид натрію є високо токсичним і реактивним в чистій формі. При концентрації в продукті 0,09% проте не небезпечний. Всупереч класифікації як безпечний, ми настійно рекомендуємо використовувати звичайні правила безпеки.
7. Деякі набори містять Проклін 300 в якості консерванту. При знищенні реагентів, що містять Проклін 300, промийте великою кількістю води для розбавлення компонентів до нижче активного рівня.
8. Використовуйте рукавички при роботі із зразками і реагентами і ретельно мийте руки після роботи.
9. Не піпетувати ротом.
10. Не їжте, не пийте, не куріть і не застосовуйте косметику у місця роботи із зразками або реагентами набору.
11. Не допускайте контакту між буферним розчином перекису і легко окислювальними матеріалами: підвищена температура може викликати спонтанний спалах.
12. Дотримуйтеся настанов щодо здійснення контролю якості в лабораторії, використовуйте дослідження контролів та/або насичених сироваток. Дотримуйтеся існуючого законодавства при роботі з усіма реагентами та зразками.

Дотримуватися встановлених правил для проведення контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролів та/або об'єднаної сироватки. При роботі з усіма реагентами, контролями і зразками сироватки дотримуватися існуючих правових норм.

### ВМІСТ НАБОРУ

Склад	Для 96 визначень
Кіл-ть, шт.: 1	Мікропланшет, що складається з 12 модулів по 8 лунок кожен, покритих високоочищеним анти-людським β <sub>2</sub> -мікроглобуліном IgG (поліклональних). Готовий до використання.
6 флаконів, 1.5 мл кожен	Калібратори β <sub>2</sub> -мікроглобуліну (AF) в PBS/BSA матриці (NaN <sub>3</sub> < 0.1% (w/w)), що містять β <sub>2</sub> -мікроглобулін: 0; 0,75; 1,5; 3; 6; 12 мкг/мл. Готові до використання.
2 флакона, 1.5 мл кожен	Контролі β <sub>2</sub> -мікроглобуліну в PBS/BSA матриці (NaN <sub>3</sub> < 0.1% (w/w)) позитивний (1) і негативний (2); інформацію про відповідні концентрації шукати у вкладиші інструкції. Готові до використання.
1 флакон, 20 мл	Буфер зразка (Tris, NaN <sub>3</sub> < 0.1% (w/w)), концентрат жовтого кольору (5x).
1 флакон, 15 мл	Розчин ферментного кон'югату (PBS, PROCLIN 300 < 0.5% (v/v)), (біло-рожевий), містить поліклональний анти-людський β <sub>2</sub> -мікроглобулін IgG; позначений пероксидазою хрому. Готовий до використання.
1 флакон, 15 мл	Розчин субстрату ТМБ, готовий до використання.
1 флакон, 15 мл	Стоп розчин (містить кислоту). Готовий до використання.
1 флакон, 20 мл	Промивний розчин (PBS, NaN <sub>3</sub> < 0.1% (w/w)), концентрат (50x).

### ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

1. Зберігати набір при 2-8 °С.
2. Зберігати лунки мікропланшета запечатаними в сухому пакеті з осушувачем.
3. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності.
4. Не піддавати реагенти впливу тепла, сонця або сильного світла під час зберігання чи використання.
5. Розведений буфер зразків і миючий буфер стабільні до 30 днів при зберіганні при 2-8 °С.

### НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

#### Обладнання

- Мікропланшетний зчитувач, що знімає показники кінцевої точки з довжиною хвилі 450 нм
- Багатоканальний дозатор або піпетка для дозування на 100 мкл
- Вихрова мішалка
- Піпетки на 10, 100 і 1000 мкл
- Лабораторний таймер
- Програмне забезпечення для обробки даних

#### Підготовка реагентів

- Дистильована або деіонізована вода
- Мірний циліндр на 100 і 1000 мл
- Пластиковий контейнер для зберігання розчину для промивання

### ЗАБІР, ЗБЕРІГАННЯ І РОБОТА ЗІ ЗРАЗКОМ

1. Провести забір зразків ранкової сечі або цільної крові, використовуючи прийнятну медичну технологію, уникаючи гемолізу.
2. Дати крові можливість згорнутися і відокремити сироватку центрифугуванням.
3. Сироватка повинна бути чистою і негемолізованою. Необхідно уникати забруднення гемолізом або ліпемії, але не втручатися в проведення тесту.
4. Зразки повинні зберігатися при 2-8 °С до 5 днів або при -20 °С до шести місяців.
5. Уникати повторного заморожування і розморожування зразків сироватки і сечі. Це може призвести до втрати активності протеїну.
6. Не рекомендовано тестування інактивованої теплом сироватки.

### ПРОЦЕДУРНІ ЗАУВАЖЕННЯ

1. Не використовувати компоненти набору після закінчення терміну придатності.
2. Не змінювати компоненти набору між різними лотами.
3. Всі матеріали слід привести до кімнатної температури (20-28 °С).
4. Всі реагенти повинні бути готові перед початком проведення аналізу. Після початку аналіз необхідно проводити безперервно для отримання надійних і точних результатів.
5. Проводити всі кроки аналізу в зазначеному порядку.

- Завжди використовувати свіжорозведені зразки.
  - Піпетувати всі реагенти та зразки на дно лунок.
  - Для запобігання забруднення міняти наконечники між зразками та різними контролями набору.
  - Дуже важливо промивати лунки ретельно і видаляти повністю всю рідину для отримання оптимальних результатів.
  - Всі кроки інкубації повинні проводитися в визначений час.
  - Контрольна сироватка або фонд повинні аналізуватися в плановому порядку, як невідомі, для перевірки роботи реагентів та аналізу.
  - Не використовуйте повторно лунки мікропланшета.
- Для всіх контролів на етикетках флаконів вказані відповідні концентрації. Використовуючи ці концентрації, може бути обчислена калібрувальна крива для напівкількісного зчитування результатів пацієнта.

## ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

### Приготування буфера зразка

Розбавити вміст кожного флакона концентрату буфера зразка (5x) з дистильованою водою до кінцевого об'єму 100 мл перед використанням. Зберігати охолодженим: стабільні при 2-8 °С, принаймні, 30 днів після приготування або до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.

### Приготування розчину для промивання

Розбавити вміст кожного флакона концентрату для промивання (50x) з дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл перед використанням. Зберігати охолодженим: стабільні при 2-8 °С, принаймні, 30 днів після приготування або до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.

### Приготування зразка

Розбавити всі зразки сечі 1:10 буфером для зразків перед дослідженням. Для цього змішайте 100 мкл сечі і 900 мкл буфера для зразків у полістиролових пробірках. Змішати добре. Зразки плазми або сироватки пацієнтів розвести 1:100 буфером для зразків перед аналізом. Для цього додайте 10 мкл зразка до 1,000 мкл буфера для зразка в пробірці з полістиролу. Ретельно перемішайте. Калібратори і контролі готові до використання, їх не потрібно розбавляти.

## ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ

- Підготувати достатню кількість модулів мікропланшета для розміщення калібраторів, контролів і попередньо розведених зразків пацієнтів в дублях.

	1	2	3	4	5	6
A	SA	SE	P1	P5		
B	SA	SE	P1	P5		
C	SB	SF	P2	P..		
D	SB	SF	P2	P..		
E	SC	C1	P3			
F	SC	C1	P3			
G	SD	C2	P4			
H	SD	C2	P4			

SA-SF: стандарти від А до F  
P1,P2...зразки пацієнтів 1,2  
C1: позитивний контроль  
C2: негативний контроль

- Піпетувати **100 мкл** калібраторів, контролів і попередньо розведених зразків пацієнтів в лунки.
- Інкубувати **30 хвилин** при кімнатній температурі (20-28 °С).
- Видалити вміст лунок і тричі промити з **300 мкл** промивного розчину.
- Додати **100 мкл** розчину ферментного кон'югата в кожен лунку.
- Інкубувати **15 хвилин** при кімнатній температурі.
- Видалити вміст лунок і тричі промити з **300 мкл** промивного розчину.
- Додати **100 мкл** субстрату TMB в кожен лунку.
- Інкубувати **15 хвилин** при кімнатній температурі.
- Додати **100 мкл** стоп розчину в кожен лунку модулів і витримати 5 хвилин.
- Зчитати оптичну щільність при 450 нм і розрахувати результати. Біхроматичне вимірювання проводити при 600-690 нм (рекомендовано).

Забарвлення стабільне протягом 30 хвилин. Зчитати оптичну щільність за цей час.

## Автоматизація

Набір "ORGENTEC β<sub>2</sub>-мікроглоблін ELISA" може бути використаний з відкритими автоматичними ELISA процесорами. Тестова процедура, описана вище, придатна для використання з або без автоматизації.

## ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

### Контроль якості

Даний тест є дійсним тільки, якщо оптична щільність при 450 нм для Позитивного Контролю (1) і Негативного Контролю (2), а також для калібраторів A-F, відповідає діапазонам, зазначеним у сертифікаті

контролю якості, що поставляється разом з набором! Якщо будь-які критерії не відповідають, результати вважаються недійсними, і тест необхідно повторити.

### Обчислення результатів

Для даного набору рекомендується метод 4-параметричної регресії з лінійно-логічними координатами для оптичної щільності і концентрації.

**Результати зразків сироватки можуть бути зчитані прямо зі стандартної кривої. Результати зразків сечі повинні бути поділені на 10 після розрахунків!**

### Рекомендована лінійно-логічна діаграма

Спочатку розрахувати середні оптичні щільності для кожного калібратора. Використовувати лінійно-логічний міліметровий папір і відкласти середню оптичну щільність проти концентрації для кожного калібратора. Провести оптимальну калібрувальну криву, використовуючи всі точки. Калібрувальні точки також можуть бути з'єднані в ділянки прямих ліній. Концентрація невідомих зразків обчислюється інтерполяцією.

### Приклад обчислення

Зазначені нижче значення є типовими для набору β<sub>2</sub>-мікроглоблін ELISA. Ці дані призначені тільки для ілюстрації та не можуть бути використані для обчислення результатів пацієнтів.

Calibrators									
No	Position	OD 1	OD 2	Mean	Conc. 1	Conc. 2	Mean	decl.Conc.	CV %
ST1	A 1/A 2	0.027	0.024	0.025	0.10	0.10	0.10	0.00	8
ST2	B 1/B 2	0.539	0.524	0.532	0.79	0.77	0.78	0.75	2
ST3	C 1/C 2	0.911	0.910	0.910	1.4	1.4	1.4	1.5	0
ST4	D 1/D 2	1.484	1.527	1.506	3.0	3.2	3.1	3.0	2
ST5	E 1/E 2	1.965	1.903	1.934	6.5	5.8	6.1	6.0	2
ST6	F 1/F 2	2.204	2.210	2.207	11.4	11.6	11.5	12.0	0

### Інтерпретація результатів

При вивченні нормального діапазону використовувалися зразки сечі та сироватки/плазми здорових пацієнтів, і був встановлений наступний діапазон значень:

Зразки сечі: 0-0.3 мкг/мл

Зразки сироватки або плазми: 0-3.0 мкг/мл

Кожній лабораторії рекомендується встановити свій власний діапазон нормальних і патологічних значень для зразків сечі.

## РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Лінійність

В експериментах по розбавленню зразків сироватки і сечі з високими концентраціями β<sub>2</sub>-мікроглобуліну були розбавлені буфером для зразків і проаналізовані. Аналіз показує лінійність на всьому діапазоні вимірювання.

### Точність (Відтворюваність)

Статистичні дані для коефіцієнтів варіації (CV) були розраховані для кожного з трьох зразків у 24 визначеннях в одному аналізі для оцінки відтворюваності всередині серії. Відтворюваність між серіями оцінювалася за результатами 5 різних аналізів по 6 визначень кожного зразка:

Intra-Assay		
Sample No	Mean [µg/ml]	CV [%]
1	1.6	4.2
2	7.2	2.6
3	12.5	3.6

Inter-Assay		
Sample No	Mean [µg/ml]	CV [%]
1	1.7	4.9
2	7.5	3.8
3	13.1	4.9

### Чутливість

Нижня межа виявлення для β<sub>2</sub>-мікроглобуліну становить 0,1 мкг/мл.

### Специфічність

Антисироватка анти-β<sub>2</sub>-мікроглобуліну (поліклональна), використана для покриття мікропланшетів, є високоспецифічною до людського β<sub>2</sub>-мікроглобуліну. Перехресна реактивність не спостерігалася.

## ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Набір "ORGENTEC β<sub>2</sub>-мікроглоблін ELISA" призначений для діагностичних цілей. Встановлення клінічного діагнозу не повинно ґрунтуватися на результатах одного тесту і має враховувати всі дані клінічних та лабораторних досліджень.

## ІНТЕРФЕРУЮЧІ РЕЧОВИНИ

На результати тесту не впливають гемолізована (до 1000 мг/дл), ліпемічна (до 3 г/дл тригліцеридів) сироватка або сироватка, що містить білірубін (до 40 мг/дл). Не було виявлено впливу при використанні антикоагулянтів. Проте, в практичних цілях рекомендується не використовувати сильно гемолізовану або ліпемічну сироватку.

## СХЕМА ІНКУБАЦІЇ

- 1 Піпетувати **100 мкл** калібратора, контролю або взірця пацієнта  
→ Інкубувати **30 хвилин** при кімнатній температурі  
→ Видалити вміст лунок і **тричі** промити з **300 мкл** промивного розчину
- 2 Додати **100 мкл** ферментного кон'югата  
→ Інкубувати **15 хвилин** при кімнатній температурі  
→ Видалити вміст лунок і тричі промити з **300 мкл** промивного розчину
- 3 Піпетувати **100 мкл** розчину Субстрату  
→ Інкубувати **15 хвилин** при кімнатній температурі
- 4 Додати **100 мкл** Стоп розчину  
→ Витримати **5 хвилин**  
→ Зчитати результат при **450 нм**



### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

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

