

Інструкція з експлуатації ГAMK ELISA

REF BA E 2500



1. Введення

1.1. Призначення та принцип тесту

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) у плазмі людини, сироватці і сечі.

Після екстракції та дериватизації гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) кількісно визначається ELISA.

Конкурентний ELISA використовує формат мікропланшету. Антиген пов'язаний з твердою фазою мікропланшету. Ациліровані концентрації аналіту стандартів, контролів та зразків та твердої фази зв'язаного аналіту конкурують за фіксовану кількість зв'язаних сайтів анти сироватки. Коли система входить в рівновагу, вільний антиген та вільні комплекси антиген-антитіла видаляють шляхом промивання. Антитіло пов'язане з твердою фазою, визначається анти-кролячим IgG-пероксидази кон'югатом, використовуючи ТМВ як субстрат. Реакцію спостерігають при 450 нм.

Кількісна оцінка невідомих зразків досягається шляхом порівняння їх абсорбції зі стандартною кривою, підготовленою з відомими стандартами.

2. Процедурні застереження, інструкції, попередження та обмеження

2.1. Процедурні застереження, інструкції та попередження

- (1) Цей комплект призначений тільки для професійного використання. Користувачі повинні мати глибоке розуміння цього протоколу для успішного використання цього набору. Тільки інструкція з тестування, що надається комплектом, дійсна і повинна бути використана для прогону аналізу. Надійна продуктивність буде досягнута лише шляхом суворого та ретельного дотримання вимог наданої інструкції.
- (2) Цей аналіз було підтверджено для певного виду зразка, як зазначено в Призначеному застосуванні (див Розділ 1). Будь-яке використання даного комплекту поза інструкцією є відповідальністю користувача, а не виробника.
- (3) Необхідно дотримуватися принципів належної лабораторної практики (GLP).
- (4) Щоб зменшити вплив потенційно шкідливих речовин, одягніть лабораторні рукавички, одноразові захисні рукавички та захисні окуляри, де це необхідно.
- (5) Реактиви та зразки всіх комплектів повинні бути доведені до кімнатної температури та змішані м'яко, але ретельно перед використанням. Уникайте повторного заморожування та відтавання реагентів та зразків.
- (6) Для розведення або відновлення використовують деіонізовану, дистильовану або ультра-чисту воду.
- (7) Мікропланшет містить відрізнi стріпи. Невикористані лунки повинні зберігатися при температурі від 2 ° C до 8 ° C у герметичному пакеті з фольги з осушувачем і використовуватися в передбаченому тримачу.
- (8) Дублююче визначення вибірки настійно рекомендується, щоб бути в змозі визначити потенційні помилки прокапування.
- (9) Після початку випробування всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та прилади готуються в належний час.
- (10) Час інкубації впливає на результати. Всі лунки повинні оброблятися в тому ж порядку і інтервалах часу.
- (11) Щоб уникнути перехресного забруднення реагентів, використовуйте нові одноразові наконечники піпетки для видачі кожного реагенту, зразку, стандарту і контролю.

- (12) Для кожного прогона має бути встановлена стандартна крива.
- (13) Контроль повинен бути включений в кожний прогін та відповідати встановленим межам довіри. Межі довіри наведено в Звіті про забезпечення контролю якості, наданому комплектом.
- (14) Не змішуйте компоненти набору з різними номерами партії в рамках тесту і не використовуйте реагенти за межами терміну придатності, як показано на етикетках набору.
- (15) Уникайте контакту з СТОП РОЗЧИНОМ, що містить 0,25 М H₂SO₄. Це може спричинити подразнення шкіри та опіки. У випадку контакту з очима або шкірою, негайно змийте водою.
- (16) Підкладка ТМБ має подразнюючу дію на шкіру та слизову оболонку. У разі можливого контакту промийте очі з рясним об'ємом води і шкіру з милом і великою кількістю води. Промити забруднені об'єкти раніше їх повторного використання .
- (17) За інформацією про небезпечні речовини, включені в набір, зверніться до Паспорта безпеки матеріалів (MSDS). Паспорт безпеки матеріалів для цього продукту доступний безпосередньо на веб-сайті виробника або за запитом.
- (18) Очікувані референтні значення, наведені в цій інструкції, є лише показовими. Рекомендується кожній лабораторії встановити свої контрольні інтервали.
- (19) Реактиви набору мають розглядатися як небезпечні відходи та утилізуватися відповідно до національних правил.

2.2 Обмеження

Будь-яке неправильне поводження із зразками або модифікація цього випробування може вплинути на результати.

2.2.1 Впливаючі речовини

Сироватка / плазма

Зразки, що містять осадки або фібринові нитки або які є гемолітичними або ліпемічними, можуть викликати неточні результати.

24-годинна сеча

Будь ласка, зверніть увагу на підготовку зразка! Якщо процент кінцевої концентрації кислоти занадто високий, то буферна ємність розріджувача недостатня. Як наслідок, ГАМК не буде виділятися кількісно.

2.2.2 Вплив ліків

Не існує ніяких відомих речовин (лікарських засобів), які при вживанні через шлунок перешкоджають вимірюванню рівня ГАМК в зразку.

2.2.3 Ефект високої дози-гачка

У цьому тесті не було виявлено ефекту гака.

3. Зберігання та стабільність

Зберігайте нерозкриті реагенти при температурі від 2 до 8 ° С до закінчення терміну придатності. Не використовуйте компоненти після завершення терміну дії дати, вказаної на етикетках набору. Після відкриття реагенти стабільні протягом 1 місяця при зберіганні при 2 - 8 ° С. Після того, як було відкрито пакет, слід привернути увагу до його ретельного закриття з осушувачем знову.

4. Матеріали

4.1 Зміст набору

BA D-0090 FOILS Клейова Фольга - Готова до використання

Містить: Клейову фольгу у багаторазовому пакеті.

Об'єм: 3 x 4 фольги.

BA D-0033 Мікропланшет. - готовий до використання.

Містить : 2-х 48-луночних пластини, порожні у пакеті багаторазового використання

BA E -2442 EXTRACT PLATE 48 Екстракційна пластина - Готова до використання.

Містить: 2-х 48-луночна пластина, попередньо покрита катіонним обмінником у пакеті багаторазового використання .

BA EA-0030 WASH CONC 50 x Промивний буфер концентрат - Концентрований 50x

Вміст: Буфер з неіонним детергентом та фізіологічним рН

Об'єм: 1 x 20 мл / флакон , світло-фіолетовий ковпачок

BA E-0040 CONJUGATE Ферментний кон'югат - готовий до використання

Містить: козячий анти-кроликовий імуноглобулін, кон'югований з пероксидазою.

Об'єм: 1 x 12 мл / флакон, червоні ковпачки

BA E-0055 SUBSTRATE Субстрат - готовий до використання.

Містить: хромогенний субстрат, що містить тетраметилбензидін, субстратний буфер і водневий перекис.

Об'єм : 1 x 12 мл / чорний флакон, чорний ковпачок

BA E-0080 STOP SOLN Стоп Розчин - Готовий до використання

Містить: 0,25 М сірчаної кислоти.

Об'єм: 1 x 12 мл / флакон, світло-сірий ковпачок

BA E-2531 GABA Мікропланшет ГАМК - готовий до використання

Містить: 1 x 96 лунок (12x8) мікропланшет, попередньо покритий антигеном багаторазовій упаковці з фольги з осушувачем

BA E-2510 AS GABA ГАМК Антисироватка - готовий до використання

Вміст: Кролячі анти-ГАМК-антитіла, синього кольору

Об'єм: 1 x 6 мл / флакон, синій ковпачок

Стандарти і контролю

Готові до використання

Кат.№	Компонент	Колір/ковпачок	Концентрація нг/мл	Концентрація нмоль/л	Обсяг/флакон
BA E 2501	Стандарт А	білий	0	0	4 мл
BA E 2502	Стандарт В	світло жовтий	75	727	4 мл
BA E 2503	Стандарт С	помаранчовий	250	2425	4 мл
BA E 2504	Стандарт D	темно синій	750	7275	4 мл
BA E 2505	Стандарт Е	світло сірий	2500	24250	4 мл
BA E 2506	Стандарт F	чорний	7500	72750	4 мл
BA E 2551	Контроль 1	світло сірий	Зверніться до Звіту з питань якості для очікуваного значення та прийнятного діапазону!		4 мл
BA E 2552	Контроль 2	темно червоний			4 мл

Конверсія: ГАМК (нг / мл) x 9,7 = ГАМК (нмоль / л)

Вміст: кислотний буфер з консервантами, що не містять ртуті, збагачений з визначеною кількістю ГАМК

BA E-2513 ASSAY BUFF Буфер аналізу - готовий до використання.

Містить: буфер з консерватором, що не містить ртуті.

Об'єм: 1 x 20 мл / флакон, жовтий ковпачок

BA E-2428 EQUA REAG компенсуючий реагент - ліофілізований

вміст: ліофілізований білок
об'єм: 1 флакон, коричневий ковпачок

BA E-2446 D-reagent D-реагент - готовий до використання

вміст: агент зшивання в диметилсульфоксиді;
об'єм: 1 x 4 мл / флакон; білий ковпачок;
Ідентифікація небезпек:
H318 викликає серйозні пошкодження очей;
H334 може викликати алергію або симптоми астми або труднощі з диханням при вдиханні.
H332 Шкідливий при вдиханні.
H315 Причиняє роздратування шкіри.
H317 Може викликати алергічну реакцію шкіри

BA E-2458 Q-BUFFER Q-буфер - Готовий до використання.

Містить: буфер TRIS.
Об'єм: 1 x 20 мл / флакон, білий ковпачок

BA E-2561 I-BUFFER I-буфер – концентрат

Вміст: Буфер з неіонним миючим засобом та консервантом, що не містить ртуті.
Об'єм: 1 x 4 мл / флакон, світло-червоний ковпачок

BA E-2541 ELUTION BUFER Елюїруючий буфер - Готовий до застосування.

Містить: Буфер з лимонною кислотою .
Об'єм: 1 x 50 мл / флакон, темно-зелений ковпачок

BA E-2560 DILUENT Розчинник - готовий до використання

Вміст: Буфер з кислотним вмістом рН
Об'єм: 2 x 20 мл / флакон, синій ковпачок.

BA E-2787. NaOH NaOH . Готовий до використання.

Вміст: розчин гідроксиду натрію.
Об'єм : 1 x 2 мл / флакон, пурпурний ковпачок.

Ідентифікація небезпек:

H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей

*Для визначення сироватки та плазми стандарти та контролю завжди повинні бути розбавлені 1: 3 [наприклад 100 мкл стандартів + 200 мкл води (деіонізованої, дистильованої або ультра-чистої)]. Не забувайте коригувати результат після цього розведення. Значення в сечі ГАМК вище, ніж у сироватці крові та плазмі. Розведення стандартів полягає в тому, щоб забезпечити, щоб зразок вимірювався в лінійній частині стандартної кривої.

4.2 Додаткові матеріали та обладнання, необхідні, але не передбачені в наборі

- калібровані точні піпетки для видачі об'ємів між 10 - 400 мкл; 1 мл; 10 мл
- пристрій мікропланшетів (ручний, напів-автоматизований або автоматизований)
- рідер ELISA з можливістю зчитування абсорбції 450 нм та, якщо можливо, 620 - 650 нм
- шейкер мікропланшета (амплітуда струшування 3 мм, приблизно 600 об / хв)
- віхровий міксер
- абсорбуючий матеріал (паперовий рушник)
- вода (деіонізована, дистильована або ультра-чиста)

5. Збір та зберігання зразків

Плазма

Цільну кров слід збирати в центрифужні пробірки, що містять ЕДТА як антикоагулянт (Monovette™ або Vacuette™ для плазми), та центрифугувати при кімнатній температурі відразу ж після її збирання.

Зразки натщесердце або зразки перед годуванням для дітей (через 2 - 3 години після останньої їжі). Для аналізу не слід використовувати гемолітичні та особливо ліпідні зразки.
Зберігання: до 24 годин при 2-8 ° С, протягом тривалого періоду (до 6 місяців) при -20 ° С. Повторного заморожування та відтавання слід уникати.

Сироватка

Забирати кров через венепункцію (Monovette™ або Vacuette™ для сироватки), дозволити згорнутися та відокремлювати центрифугуванням при кімнатній температурі. Не робіть центрифугування, перш ніж повне згортання не відбулося. Пацієнти, що приймають антикоагулянтну терапію, можуть вимагати збільшення часу згортання крові.

Зразки натщесердце або зразки перед годуванням для дітей (через 2 - 3 години після останньої їжі) рекомендовано. Не слід використовувати гемолітичні та особливо ліпемічні зразки для аналізу.
Зберігання: до 24 годин при температурі від 2 до 8 ° С, протягом тривалого періоду часу (до 6 місяців) при -20 ° С. Необхідно уникати повторного заморожування та розморожування. Уникати впливу прямих сонячних променів.

Сеча

Може використовуватися спонтанна сеча або 24-годинна сеча, зібрана в пляшці, що містить 10-15 мл 6 М НСІ. Якщо 24-годинна сеча використана, будь ласка, запишіть загальний обсяг зібраної сечі. Якщо відсоток кінцевої концентрації кислоти занадто високий, буферна ємність розріджувача недостатня. Як наслідок, ГАВА не буде виділятися кількісно.

Зберігання: протягом більш тривалого періоду (до 6 місяців) при -20 ° С.

Необхідно уникати повторного заморожування та відтавання. Уникати впливу прямих сонячних променів!

6. Процедура аналізу

Довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури і ретельно перемішайте шляхом легкої інверсії перед використанням. Рекомендовані повторювані визначення.

Зв'язування антисироватки та кон'югату ферменту та активність ферменту залежать від температури, а значення абсорбції можуть відрізнятись, якщо термостат не використовується. Чим вище температура, тим вище буде значення поглинання. Різний час інкубації матиме аналогічне вплив на абсорбцію. Оптимальна температура під час проведення імуноферментного аналізу становить від 20 до 25 ° С.

У разі переповнення зчитати абсорбцію розчину в лунках протягом 10 хв, використовуючи рідер мікропланшету, встановлений на 405 нм.

6.1. Підготовка реагентів

Промивний буфер

Розчинити 20 мл промивного буферу концентрату з водою (деіонізований, дистильований або ультра-чистою) до кінцевого об'єму 1000 мл.

Зберігання: 1 місяць при 2 - 8 °

Компенсуючий реагент

Відновити компенсуючий реагент з 10 мл буфера аналізу.

Відновлений компенсуючий реагент, який не використовується негайно, повинен зберігатися максимум 1 місяць при -20 ° С і повинен бути розморожений тільки один раз.

I-буфер

Розвести 4 мл концентрату I-буфера з водою (деіонізованою, дистильованою або ультра-чистою) до кінцевого об'єму 400 мл.

Зберігання: 1 місяць при 2 - 8 ° С

D-реагент

D-реагент має температуру замерзання 18,5 ° С. Переконайтеся, що D-реагент досяг кімнатної температури і утворює однорідний, без кристалів розчин.

6.2 Підготовка зразків

ГАМК ELISA - гнучка система тестування для різних типів біологічних зразків. Неможливо дати загальні поради, як підготувати зразки. Проте наступні основи повинні допомогти дослідникові відповідати протоколу до його конкретних потреб:

- для визначення зразків діапазону від 25 до 2500 нг / мл стандарти та контролю повинні бути розбавлені 1: 3 водою [наприклад, 100 мкл стандарту + 200 мкл води (деіонізованої, дистильованої або ультра-чистої)]. Така попередня оцінка стандартів повинна враховуватися при розрахунку результатів. Стандарти розбавляють, щоб переконатись, що зразки потрапляють у лінійну частину стандартної кривої. **Не розбавляти зразки!**
- Для визначення проб діапазону від 75 до 7 500 нг / мл не розбавляйте стандарти, контролю чи зразки.
 - Уникайте надлишку кислоти: перевищення кислоти може перевищити буферну ємність розчинника буфера. рН 3.0 при екстракції є обов'язковим.
 - Рекомендується провести **доказ принципу** для визначення відновлення зразків ГАМК. Підготувати основний розчин ГАМК. Додайте невелику кількість (для зміни рідної матриці зразків якнайменше можливо) з вихідних розчинів матриці зразка та перевірте відновлення.
 - Обсяг вибірки визначає чутливість цього тесту. Визначте об'єм зразку, необхідний для визначення ГАМК у вашому зразку, перевіряючи різні обсяги зразку.*Якщо вам потрібна підтримка при встановленні протоколу для ваших конкретних цілей, не соромтеся звернутися безпосередньо до виробника!*

6.3 Процедура аналізу (75 - 7 500 нг / мл)

6.3.1 Екстракція

1. Прокачайте 100 мкл стандартів, контролів та зразків у відповідні лунки екстракційного планшету.
2. Додати 100 мкл розріджувача до всіх лунок. Покрити з клейкою фольгою та інкубувати протягом 15 хв при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
3. Видалити і просушити, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал. Промити кожну лунку 500 мкл води (деіонізованої, дистильованої або ультра-чистої) та інкубувати протягом 5 хв при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
4. Видалити промивний буфер та просушити, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал.
5. Прокачайте 400 мкл елююючого буфера у відповідні лунки екстракційної пластини. Покрийте пластину з клейкою фольгою та інкубувати протягом 10 хв при кімнатній температурі (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
6. Використовуйте 100 мкл для подальшої дериватизації!

6.3.2 Дериватизація

1. Прокачайте 100 мкл екстрагованих стандартів, контролів та зразків у відповідні лунки мікропланшета.
2. Прокачайте 10 мкл NaOH у всі лунки.
3. Додати 50 мкл екстрагуючого реагенту (свіжого, підготовленого перед аналізом) до всіх лунок та інкубувати протягом 1 хв на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
4. Прокачайте 10 мкл D-реагенту у всі лунки.
5. Покрийте пластину клейкою фольгою та інкубувати протягом 2 годин при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (близько 600 об / хв) .
6. Прокачайте 200мкл Q-буфера у всі лунки.
7. Струшувати протягом 10 хв при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
8. Використовуйте 50 мкл для наступного ІФА!

6.3.3 ГАМК ELISA

1. Прокачайте 50 мкл дериватизованих стандартів, контролів та зразків у відповідні лунки ГАМК мікропланшету.
2. Прокачайте 50 мкл анти сироватки ГАМК в усі лунки та швидко перемішайте.

3. Покрийте планшет з клейкою фольгою та інкубуйте протягом 15-20 годин (протягом ночі) при 2-8 ° С. Альтернативно інкубуйте 2 год при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
4. Видалить фольгу. Видалити або аспірувати вміст лунок. Промийте планшет 3 х, додаючи 300 мкл водяного буфера, видалити вміст і висушувати кожен раз, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал.
5. Прокачайте 100мкл ферментного кон'югату у всі лунки.
6. Інкубуйте 30 хвилин при кімнатній температурі (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
7. Видалити або аспірувати вміст лунок. Промити пластину 3 х, додавши 300 мкл промивного буфера, видаляючи вміст і висушуючи кожен раз, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал.
8. Прокапати 100 мкл субстрату в усі лунки та інкубувати протягом 20 - 30 хв при кімнатній температурі (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв). Уникати впливу прямих сонячних променів!
9. Додайте 100мкл стоп-розчину до кожної лунки та струшуйте мікропланшет, щоб забезпечити однорідний розподіл розчину.
10. Прочитайте абсорбцію розчину в лунці протягом 10 хвилин, використовуючи рідер зчитування мікропланшетів, встановлений на 450 нм (якщо це можливо, рекомендується референтна довжина хвилі від 620 нм до 650 нм).

6.4. Процедура тестування (25-2 500 нг / мл)

6.4. 1 Екстракція

1. Прокачайте 300 мкл розбавлених стандартів, контролів та нерозбавлених зразків у відповідну склянку екстракційної пластини.
2. Додайте 300 мкл розріджувача до всіх лунок. Покрийте пластину з клейкою фольгою та інкубуйте 30 хвилин при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв)
3. Промивочний крок (2 цикли):
видалити та осушити, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал.
Додайте 1мл I-буфера до кожної лунки та інкубуйте пластину протягом 5 хв при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (приблизно 600 обертів на хвилину). Видалити та осушити , натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал. Додайте 1мл I-буфера до кожної лунки та інкубуйте пластину протягом 5 хв при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
4. Видалити та осушити, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал.
5. Прокачайте 250 мкл еліруючого буфера у відповідні лунки екстракційного планшета. Покрийте планшет з клейкою фольгою та інкубувати протягом 10 хв при кімнатній температурі (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
6. Використовуйте 100 мкл для подальшої дериватизації!

6.4.2 Дериватизація

1. Прокачайте 100 мкл екстрагованих стандартів, контролів та зразків у відповідні лунки мікропланшета.
2. Прокачайте 10 мкл NaOH у всі лунки.
3. Додайте до всіх лунок 50 мкл компенсуючого реагенту (свіжого, підготовленого перед аналізом) та інкубуйте протягом 1 хв на шейкері (600 об / хв) .
4. Прокачайте 10 мкл D-реагенту у всі лунки.
5. Покрийте пластину з клейкою фольгою та інкубуйте протягом 2 год при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (близько 600 об / хв) .
6. Прокачайте по 150 мкл Q-буфера на всі лунки.
7. Інкубуйте протягом 10 хв при кімнатній температурі (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
8. Використовуйте 25 мкл для наступного ELISA!

6.4.3 ГАМК ELISA

1. Прокачайте 25 мкл дериватизованих стандартів, контролів та зразків у відповідні лунки ГАМК мікропланшета.
2. Прокачайте 50 мкл анти сироватки ГАМК в усі лунки та перемішайте швидко.
3. Покрити з клейкою фольгою та інкубувати протягом 15-20 годин (протягом ночі) при 2-8 ° С. Альтернативно інкубують 2 год при кімнатній температурі (20-25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
4. Видалить фольгу. Видалити або аспірувати вміст лунок. Промийте пластину 3 х, додаючи 300 мкл промивного буфера, видаляючи вміст і осушуючи кожен раз, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал.
5. Прокачайте 100мкл ферментного кон'югату у всі лунки.
6. Покрийте пластину з клейовою фольгою. Інкубуйте 30 хвилин при кімнатній температурі (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв) .
7. Видалить фольгу. Видалити вміст лунок або аспірувати його. Промити пластину 3 х, додавши 300 мкл промивного буфера, видаляючи вміст і осушуючи кожен раз, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал.
8. Прокачайте 100 мкл субстрату у всі лунки та інкубуйте протягом 20 - 30 хв при кімнатній температурі (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв). Уникати впливу прямих сонячних променів!
9. Додайте 100мкл стоп-розчину до кожної лунки та струшуйте мікропланшет, щоб забезпечити однорідний розподіл розчину.
10. Прочитайте абсорбцію розчину в лунках протягом 10 хвилин, використовуючи рідер для зчитування мікропланшетів, встановлений до 450 нм (при наявності рекомендується референтна довжина хвилі від 620 нм до 650 нм) .

7. Розрахунок результатів

Вимірюваний діапазон		ГАМК
	Сеча	
Плазма/сироватка		25-2500 нг/мл

Стандартна крива отримана шляхом нанесення показників зчитаної абсорбції (обчислена середня абсорбція) стандартів (лінійна, ось у) проти відповідних концентрацій стандартів (логарифмічна, осі х) . Використовуйте нелінійну регресію для відповідності кривої (наприклад, сплайн, 4-параметр, акіма).

Цей аналіз є конкурентним аналізом. Це означає: ОГ-значення зменшуються зі збільшенням концентрацій аналіту. Значення ОД, виявлені нижче стандартної кривої, відповідають високим концентраціям аналіту в зразку та повинні бути відмічені як позитивні.

Сироватка/ плазма

Зчитані концентрації зразків плазми повинні бути розділені на 3 .

Сеча зразки та контролі.

Концентрацію зразків та контролів можна зчитати безпосередньо зі стандартної кривої. Загальна кількість ГАМК, що виділяється з сечею протягом 24 годин, розраховується наступним чином:

$$\text{мкг} / 24\text{г} = \text{мкг} / |\text{x}| / 24\text{г}$$

Конверсія

$$\text{ГАМК (нг / мл)} \times 9,7 = \text{ГАМК (нмоль / л)}$$

Очікуване референтне значення

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія визначала власне референтне значення.

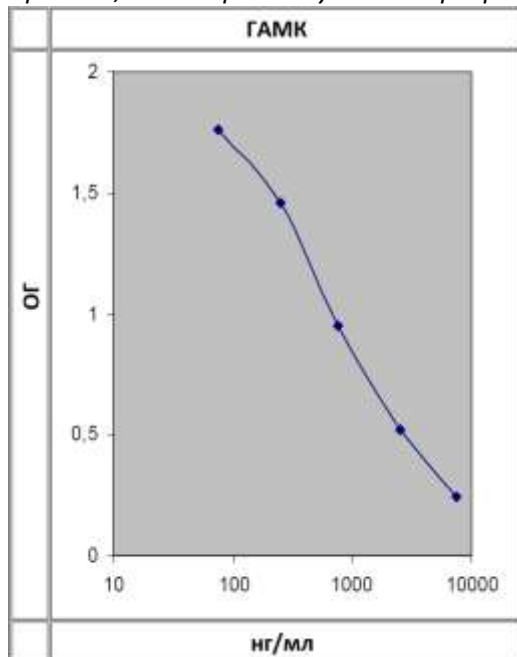
Очікуване референтне значення	Спонтанна сеча	230-1 290 мкг/г креатинін
-------------------------------	----------------	---------------------------

7.1 Контроль якості

Межі довіри контролів набору вказані в Звіті про контроль якості.

7.2 Типова стандартна крива .

Приклад, не використовуйте для розрахунку:



Див. оригінал інструкції

7.3. Характеристики аналізу

Чутливість (нижча межа виявлення)	Сеча (спонтанна)
	49 нг/мл

Відновлення	Середнє (%)	Діапазон (%)	(% відновлення після збагачення)
	104%	96-116 %	

Линійність	Діапазон (нг/мл)	Діапазон (%)	Середнє (%)
	35-4048	74-119	93

Аналітична специфічність (перехресна реактивність)	Субстанція	Перехресна реактивність (%)
		ГAMK
	ГAMK	100
	β-аланін	1,6
	α-аміномасляна кислота	< 0.09
	гліцин	< 0.09
	L-глутамін	< 0.09
β-аміномасляна кислота	< 0.09	

точність					
В аналізі			Між аналізами		
зразок	Діапазон (нг/мл)	CV (%)	зразок	Діапазон (нг/мл)	CV (%)
1	318±32	10	1	279±35	12
2	723±94	13	2	661±73	11
3	2457±110	4,9	3	1492±117	7,8

9. ЛІТЕРАТУРА

- (1) Shmais et al. Mechanism of nitrogen metabolism-related parameters and enzyme activities in the pathophysiology of autism. *Journal of Neurodevelopmental Disorders* 4(1):4 (2012)
- (2) El-Ansary et al. Relationship between chronic lead toxicity and plasma neurotransmitters in autistic patients from Saudi Arabia. *Clinical Biochemistry*, 44(23):1116-1120 (2011)
- (3) Lee et al. Astrocytes Are GABAergic Cells That Modulate Microglial Activity. *Glia* 59:152-165 (2011)
- For updated literature or any other information please contact your local supplier.**

Умовні позначення:

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо для <N> випробувань
 Дата закінчення строку придатності	LOT Код партії	IVD Тільки для діагностики в лабораторних умовах!
 Зверніться до інструкції по застосуванню	CONT Зміст	 Маркування