



**IMMUNOASSAYS AND SERVICES**

BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY

LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co.KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

## Інструкція з використання β2 мікроглобулін ІФА

**REF** TME-4600



96

**IVD**

**CE**

Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@novamedline.com, www.novamedline.com

## **Загальне призначення**

Для прямого кількісного визначення  $\beta$ 2-мікроглобуліну ( $\beta$ 2-M) за допомогою імуноферментного аналізу сироватки людини.

Тільки для діагностики in vitro.

## **ПРИНЦИП АНАЛІЗУ**

Принцип наступного імуноферментного аналізу відповідає типовому сценарію конкурентного зв'язування. Конкуренція відбувається між неміченим антигеном (наявним у стандартах, контролях та зразках пацієнтів) та міченим ферментом антигеном (кон'югат) для обмеженої кількості сайтів зв'язування антитіл на мікропланшеті.

Процедури промивання та декантування видаляють незв'язані матеріали. Після етапу промивання ферментний субстрат додається. Ферментативна реакція припиняється додаванням стоп розчину. Вимірюється поглинання на рідері мікропланшетів. Інтенсивність утвореного кольору обернено пропорційна концентрації  $\beta$ 2-M у зразку. Набір стандартів використовується для побудови стандартної кривої, з якої кількість  $\beta$ 2-M в зразках пацієнтів та контролях може бути безпосередньо зчитана.

## **КЛІНІЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ**

$\beta$ 2-Мікроглобулін ( $\beta$ 2-M) - це одиночний поліпептидний ланцюг, що містить 100 амінокислот і знаходиться на поверхні ядра клітини.  $\beta$ 2 - M постійно виділяється в систему кровообігу і тому підтримує збалансований рівень сироватки крові.

Клінічні тенденції:

- Зниження швидкості клубочкової фільтрації породжує збільшення рівня  $\beta$ 2-M.
- $\beta$ 2-M є корисним маркером у діагностиці захворювань нирок та активного ревматоїдного артриту.
- У пацієнтів із синдромом набуті імуноної недостатності (СНІД) спостерігається підвищений рівень  $\beta$ 2-M.  $\beta$ 2-M має низьку концентрацію в сироватці крові. Ми виявили, що в нормальній невідібраній популяції в сироватці крові найвищий рівень для  $\beta$ 2-M становить 3,8 мг / л. Загальна кількість досліджених зразків сироватки крові становила 92, і мало відмінностей у нормальному рівні у чоловіків, жінок до і перед менопаузою. Середнє значення для зразків чоловіків = 1,582 мг / л, для жінок в менопаузі = 1,457 мг / л, для жінок у постменопаузі = 1,608 мг / л і, нарешті, для молоді = 1,13 мг / л.

## **ПРОЦЕДУРНІ ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ**

1. Користувачі повинні добре розуміти цей протокол для успішного використання цього набору. Надійна працездатність буде досягнута лише шляхом чіткого і ретельного дотримання наданих інструкцій.
2. Контрольні матеріали або басейни сироватки повинні бути включені в кожен пробіг на високому та низькому рівні для оцінки достовірності результатів.
3. Коли використання води вказано для розведення або відновлення, використовуйте дейонізовану або дистильовану воду.
4. Щоб зменшити вплив потенційно шкідливих речовин, під час роботи з реагентами набору та зразками людини слід носити рукавички .
5. Всі реактиви та зразки набору слід довести до кімнатної температури та обережно, але ретельно перемішати перед використанням. Уникайте повторного заморожування та розморожування реагентів та зразків.
6. Для кожного пробігу повинна бути встановлена стандартна крива.
7. Контролі набору повинні бути включені в кожен пробіг і відповідати встановленим межах довіри.
8. Неправильні процедурні прийоми, неточне піпетування, неповне промивання, а також неправильне зберігання реагентів може бути вказано, коли значення аналізу для контролів не відображають встановлених діапазонів.
9. При зчитуванні мікропланшету наявність бульбашок у лунках впливатиме на оптичну густину (ОГ). Обережно видаліть усі бульбашки перед виконанням етапу зчитування.

10. Розчин субстрату (ТМБ) чутливий до світла і повинен залишатися безбарвним, якщо його правильно зберігати. Нестабільність або забруднення може свідчити про розвиток синього кольору, в цьому випадку це не повинно бути використано.
11. Дозуючи субстрат та стоп розчин, не використовуйте піпетки, в яких ці рідини контактують з будь-якими металевими деталями.
12. Щоб запобігти забрудненню реагентів, використовуйте новий одноразовий наконечник піпетки для дозування кожного реагенту, зразку, стандарту і контролю.
13. Не змішуйте різну кількість партій компонентів набору в рамках тесту і не використовуйте жодних компонентів поза терміном придатності, надрукованим на етикетці.
14. Набір реагентів слід розглядати як небезпечні відходи та утилізувати відповідно до національних правил.

#### **ОБМЕЖЕННЯ**

1. Всі реагенти в наборі відкалібровані для безпосереднього визначення  $\beta$ 2-М у сироватці крові людини. Набір не калібрований для визначення  $\beta$ 2-М у слині, плазмі та інших зразках людини або тваринного походження.
2. Не використовуйте сильно гемолізовану, сильно ліпемічну, жовтяничну або неправильно збережену сироватку.
3. Будь-які зразки або контрольні сироватки, що містять азид або тимерозал, несумісні з цим набором, вони можуть призвести до хибних результатів.
4. Тільки стандарт А може бути використаний для розведення будь-яких високих зразків сироватки крові. Використання будь-якого іншого реагенту може призвести до хибних результатів.
5. Результати, отримані за допомогою цього набору, ніколи не повинні використовуватися як єдине підґрунтя для клінічного діагнозу. Наприклад, поява гетерофільних антитіл у пацієнтів, які регулярно зазнають впливу тварин або продуктів тваринного походження можуть спричинити втручання в імунологічні тести. Отже, клінічна діагностика повинна включати всі аспекти стану пацієнта, включаючи частоту впливу тварин / продуктів тваринного походження при підозрі на хибні результати.
6. Деякі особи можуть мати антитіла до білка миші, які можуть втручатися в цей аналіз. Отже, результати будь-яких пацієнтів, які отримували підготовку мишачих антитіл для діагностики або терапії слід інтерпретувати з обережністю.

#### **ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ ПОТЕНЦІАЛЬНИЙ БІОЛОГІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИЙ МАТЕРІАЛ**

Сироватка людини, яка може бути використана для підготовки стандартів та контролів, протестована та встановлена як не реагуюча на поверхневий антиген гепатиту В, а також була протестована на наявність антитіл до ВГС та вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) і виявлена негативним. Проте жоден метод тестування не може запропонувати повну впевненість у відсутності ВІЛ, ВГС та вірусу гепатиту В або будь-яких інфекційних агентів. Реагенти слід розглядати як потенційну біологічну небезпеку та поводитися з ними самими запобіжними заходами, що застосовуються до будь-якого зразка крові.

#### **ХІМІЧНІ НЕБЕЗПЕКИ**

Уникайте контакту з реагентами, що містять ТМБ, перекис водню та сірчану кислоту. Якщо контактували з будь-яким із цих реактивів, промити великою кількістю води. ТМБ є підозрюваним канцерогеном.

#### **ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ**

Приблизно 0,1 мл сироватки потрібно для кожного повторного визначення. Зберіть 4 - 5 мл крові в відповідно промарковану пробірку і дайте їй згорнутися. Центрифугуйте і обережно видаліть шар сироватки. Зберігати при температурі 4 ° С протягом 24 годин або при -10 ° С або нижче, якщо аналізи потрібно робити пізніше. Розглядайте всі людські зразки як можливо біологічно небезпечні матеріали та вживайте відповідних запобіжних заходів при поводженні.

## ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Цей аналіз є прямою системою; попередня обробка зразків не потрібна.

## РЕАГЕНТИ ТА ОБЛАДНАННЯ ПОТРІБНІ, АЛЕ НЕ НАДАНІ

1. Точні піпетки для дозування 20, 50, 100, 150 і 300 мкл.
2. Одноразові наконечники піпеток.
3. Дистильована або дейонізована вода.
4. Шейкер мікропланшетів.
5. Рідер мікропланшетів з фільтром, встановленим на 450 нм і верхньою межею ОГ 3,0 або більше \* (див. Процедуру аналізу крок 10).

## НАДАНІ РЕАГЕНТИ

### 1. АА Е-0030

**Концентрат промивного буфера** - Потрібна підготовка X10

Зміст: Один флакон, що містить буфер з неіонним миючим засобом та нертутним консервантом.

Об'єм: 50 мл / флакон

Зберігання: Зберігати в холодильнику при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Підготовка: перед використанням розвести 1:10 у дистильованій або дейонізованій воді. Якщо потрібно використовувати цілий планшет, розбавте 50 мл концентрату промивного буфера в 450 мл води.

### 2. Субстрат АА Е-0055 ТМБ - готовий до використання

Зміст: Один флакон, що містить тетраметилбензидин та перекис водню у буфері, що не містить -DMF або DMSO.

Обсяг: 16 мл / флакон

Зберігання: Зберігати в холодильнику при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

### 3. Стоп розчин АА Е-0080 - готовий до використання

Зміст: Один флакон, що містить 1М сірчаної кислоти.

Об'єм: 6 мл / флакон

Зберігання: Зберігати в холодильнику при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Небезпеки

ідентифікація:

H290 Може бути корозійним для металів.

H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей.

### 4. Стандарти та контролю - готові до використання

Нижче наведено приблизні концентрації. Будь ласка, зверніться до етикеток флаконів для точних концентрацій:

Каталожний номер	символ	стандарт	концентрація	Обсяг/флакон
ТМ Е 4601	STANDART A	Стандарт А	0 мг/л	2,0 мл
ТМ Е 4602	STANDART B	Стандарт В	0,2 мг/л	0,5 мл
ТМ Е 4603	STANDART C	Стандарт С	0,6 мг/л	0,5 мл
ТМ Е 4604	STANDART D	Стандарт D	1,6 мг/л	0,5 мл
ТМ Е 4605	STANDART E	Стандарт E	4 мг/л	0,5 мл
ТМ Е 4606	STANDART F	Стандарт F	10 мг/л	0,5 мл
ТМ Е 4651	CONTROL 1	Контроль 1	Очікувано зверніться до етикеток флаконів значення та прийнятний діапазон	0,5 мл
ТМ Е 4652	CONTROL 2	Контроль 2		0,5 мл

Зміст:  $\beta$ 2-M у білковому буфері з нертутним консервантом. Готується шляхом збагачення буфера з визначеною кількістю  $\beta$ 2-M.

Зберігання: Зберігати в холодильнику при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців у нерозкритих флаконах або як зазначено на етикетці. Після відкриття стандарти повинні бути використані протягом 14 днів або аліквотовані і повинні зберігатися замороженими. Уникайте багаторазових циклів заморожування та розморожування .

**5. Буфер зразка ТМ Е-4613** - готовий до використання

Зміст: Один флакон, що містить буфер на основі білка з нертутним консервантом.

Об'єм: 15 мл / флакон

Зберігання: Зберігати в холодильнику при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

**6. ТМ Е-4631** Мишаче Анти- $\beta$ 2-M антитіло, розбірний покритий мікропланшет луночний

- Готовий до використання

Зміст: один 96-луноковий (12x8) моноклональний мікропланшет, покритий антитілами, у герметичній упаковці з осушувачем.

Зберігання: Зберігати в холодильнику при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

**7. ТМ Е-4640 Концентрат кон'югату  $\beta$ 2-M-пероксидази хрому (HRP)** – необхідна підготовка X50

Зміст: кон'югат  $\beta$ 2-M-HRP у буфері на основі білка з нертутним консервантом.

Обсяг: 0,4 мл / флакон

Зберігання: Зберігати в холодильнику при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Підготовка: перед використанням розведіть 1:50 у буфері для аналізу (наприклад, 40 мкл HRP у 2 мл буфера аналізу). Якщо цілий планшет слід використовувати розведену 240 мкл HRP у 12 мл буфер аналізу. Видаліть все, що залишилось.

## ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Попередня обробка зразка: немає

Перед використанням усі реактиви повинні досягти кімнатної температури. Повинні бути стандарти, контролю та зразки аналізуються у двох примірниках. Після того, як процедуру було розпочато, усі кроки слід виконувати без перерви.

1. Приготуйте робочі розчини кон'югату  $\beta$ 2-M-HRP та буфер для промивання.

2. Видаліть необхідну кількість лунок стріпів. Повторно закрийте пакет і поверніть невикористані стріпи в холодильник.

3. Внесіть піпеткою по 20 мкл кожного стандарту, контролю та зразка у відповідно позначені лунки в дублікатах.

4. Піпетуйте по 100 мкл робочого розчину кон'югату в кожен лунку.

(Ми рекомендуємо використовувати багатоканальну піпетку).

5. Інкубуйте на шейкері мікропланшетів (приблизно 200 об / хв) протягом 1 години при кімнатній температурі.

6. Промийте лунки 3 рази 300 мкл розведеного промивного буфера на лунку і щільно постукайте планшетом об абсорбуючий папір для забезпечення сухості (рекомендується використовувати вошер).

7. Піпетуйте 150 мкл субстрату ТМБ у кожен лунку через певні проміжки часу.

8. Інкубуйте на шейкері мікропланшетів протягом 15 - 20 хвилин при кімнатній температурі.

(або до тих пір, поки Стандарт А не набуде темно-синього кольору для бажаної ОГ).

9. Піпетуйте 50 мкл стоп розчину в кожен лунку з тими ж інтервалами, що й на етапі 7.

10. Зчитують планшет на рідері мікропланшетів при 450 нм протягом 20 хвилин після додавання стоп розчину. Якщо ОГ перевищує верхню межу виявлення або якщо фільтр 450 нм недоступний, фільтр 405 або 415 нм може бути заміненим. Оптичні густини будуть нижчими, однак це не вплине на результати пацієнта / контрольні зразки.

## РОЗРАХУНКИ

1. Обчисліть середню оптичну густину кожного стандартного дубліката.
2. Накресліть стандартну криву на навіл-логарифмічному папері з середніми оптичними густинами на осі Y та еталоном концентрації на осі X. Якщо використовується програмне забезпечення для імунологічного аналізу, 4-параметрична або 5-параметрична крива рекомендується.
3. Обчисліть середню оптичну густину кожного невідомого дубліката.
4. Зчитуйте значення невідомих безпосередньо зі стандартної кривої.
5. Якщо показник зразка перевищує 10 мг / л, розбавте його стандартом А у розведенні не більше 1:20. Отриманий результат слід помножити на коефіцієнт розведення.

## ТИПОВІ ТАБЛИЧНІ ДАНІ

Тільки зразкові дані. Не використовуйте для обчислення результатів.

стандарт	ОГ1	ОГ2	Середня ОГ	Значення (мг/л)
A	2,542	2,558	2,550	0
B	2,037	2,043	2,040	0,2
C	1,006	1,021	1,014	0,6
D	0,447	0,441	0,444	1,6
E	0,206	0,212	0,209	4
F	0,116	0,112	0,114	10
невідоме	0,469	0,456	0,453	1,57

## ТИПОВА СТАНДАРТНА КРИВА

Крива тільки для прикладу. Не використовуйте для обчислення результатів.

## ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

### ЧУТЛИВІСТЬ

Нижня межа виявлення обчислюється за стандартною кривою шляхом визначення результуючої концентрації середнього значення ОГ стандарту А (на основі 10 повторних аналізів) мінус 2 СВ. Отже, чутливість  $\beta$ 2- Набір MICROGLOBULIN ІФА становить 0,1 мг / л.

### СПЕЦИФІЧНІСТЬ (ПЕРЕХРЕСТНА-РЕАКТИВНІСТЬ)

Наступні сполуки тестували на перехресну реакційну здатність за допомогою набору ІФА  $\beta$ 2-МІКРОГЛОБУЛІН із  $\beta$ 2-М

перехресна реакція на 100%.

сполука	% перехресної реактивності
$\beta$ 2-мікроглобулін	100
IgG людини	< 0.00001

## ТОЧНОСТЬ в аналізі

Три зразки аналізували по десять разів на одній стандартній кривій. Результати (у мг / л) подані в таблиці нижче:

зразок	середнє	СВ	CV%
1	0.78	0.08	5.5
2	3.43	0.03	6.4
3	15.63	0.01	2.9

## ТОЧНОСТЬ МІЖ АНАЛІЗАМИ

Два зразки аналізували десять разів протягом чотирьох тижнів. Результати (у мг / л) наведені нижче в таблиці:

зразок	середнє	СВ	CV%
1	0,92	0,09	9,5
2	3,64	0,14	3,8

## ВІДНОВЛЕННЯ

Збагачені зразки готували шляхом додавання визначених кількостей  $\beta$ 2-МІКРОГЛОБУЛІНУ у дві сироватки зразків пацієнта (1: 1). Результати (у мг / л) наведені нижче в таблиці:

зразок	Спостерігаємий результат	Очікуваний результат	Відновлення %
1 незбагачений	1,70	-	-
+4	3,21	2,85	112,6
+12	7,94	6,85	115,9
+32	17,05	16,85	101,2
2 незбагачених	2,51	-	-
+4	3,25	3,26	99,7
+12	8,14	7,26	112,1
+32	17,69	17,26	102,5
1	15,96	-	-
1:5	3,14	3,19	98,4
1:10	1,57	1,60	98,1
1:20	0,77	0,80	96,3
2	17,71	-	-
1:5	3,63	3,54	102,5
1:10	1,94	1,77	109,6
1:20	1,00	0,89	112,4

## ОЧІКОВАНІ НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ

Що стосується всіх клінічних досліджень, кожна лабораторія повинна збирати дані та встановлювати власний діапазон очікуваних нормальних значень.

група	кількість	Середнє (мг/л)	Діапазон (мг/л)
Чоловіки (вік 24-70)	46	1,58	1,15-3,85
Жінки (вік 19-45)	25	1,46	0,73-3,56
Постменопауза жінки	14	1,61	1,28-2,34
Молоді чоловіки та жінки (вік 3-17)	7	1,13	0,89-1,36

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ling TGI, Mattiasson B. A General Study of the Binding and Separation in Partition Affinity Ligand Assay. Immunoassay of Beta 2-Microglobulin. J of Immunol Methods. 1983; 59(3):327–37.
2. Evrin PE, et al. A Turbidimetric Immunochemical Method for Determination of Serum  $\beta$ 2-Microglobulin Using a Centrifugal Analyzer. Clinica Chemica Acta. 1986; 155(2):151–7.
3. Curry R, et al. Rapid Semi-Quantitative Isolation of Beta-2- Microglobulin From Urine. J of Immunol Methods. 1981; 47(3):365–73.
4. Francioli P, et al. Beta 2-Microglobulin and Immunodeficiency in a Homosexual Man. New Engl J Med. 1982; 307(22):1402–3.
5. Martinez-Brú C, et al. Beta 2-Microglobulin and Immunoglobulins Are More Useful Markers of Disease Progression in HIV Than Neopterin and Adenosine Deaminase. Ann Clin Biochem. 1999; 36:601.
6. Tachibana K, et al. A Two-Site Sandwich Radioimmunoassay of Beta 2-Microglobulin With Monoclonal Antibodies. J of Immunol Methods. 1984; 75(1):43–51.
7. Uotila M, et al. Two-Site Sandwich Enzyme Immunoassay With Monoclonal Antibodies to Human Alpha-Fetoprotein. J of Immunol Methods. 1981; 42(1):11–5.
8. Brodsky FM, et al. Characterization of a Monoclonal Anti-Beta 2- Microglobulin Antibody and its Use in the Genetic and Biochemical Analysis of Major Histocompatibility Antigens. Eur J Immunol. 1979; 9(7):536–45.
9. Nilsson K, et al. Involvement of Lymphoid and Non-lymphoid Cells in the Production of  $\beta$ 2-Microglobulin–a Homologue of the Constant Domains of IgG. Nature. 1973; 244:44.
10. Leclair K, et al. A Rapid Method for Isolation of Antigenically Active Human Cell Surface Antigens Associated with Beta 2- Microglobulin Using a Monoclonal Antibody. J of Immunol Methods. 1981; 41(2):137–44.
11. O' Reilly D, et al. A Simple, Precise and Sensitive Nephelometric Assay for Beta 2-Microglobulin in Body Fluids. J of Immunol Methods. 1983; 57(1–3):265–73.
12. Revillard JP, et al. Lyon Medical. 1979; 241:681.
13. Wibell L, et al. Serum 2 -Microglobulin in Renal Disease. Nephron. 1973; 10(5):320–31.
14. Burnett RW. Accurate Estimation of Standard Deviations for Quantitative Methods Used in Clinical Chemistry. Clin Chem. 1975; 21(13):1935–8.
15. Sönnnerborg AB, et al. Elevated Neopterin and Beta 2-Microglobulin Levels in Blood and Cerebrospinal Fluid Occur Early in HIV-1 Infection. AIDS. 1989; 3(5):277–83.
16. Domingo P, et al. Prognostic Value of Serum Beta 2-Microglobulin in HIV Infection. Lancet. 1992; 340:371.
17. Lacey JN, et al. Serum Beta 2- Microglobulin and Human Immunodeficiency Virus Infection. AIDS. 1987; 1(2):123.
18. Bhalla RB, et al. Abnormally High Concentrations of Beta 2 Microglobulin in Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) Patients. Clin Chem. 1983; 29(8):1560.
19. Lambin P, et al. Neopterin and Beta 2-Microglobulin in Serum of HIV-Seropositive Subjects During a Two-Year Follow-Up. Clin Chem. 1988; 34(6):1367–8.
20. Fahey JL, et al. The Prognostic Value of Cellular and Serologic Markers in Infection with Human Immunodeficiency Virus Type 1. New Engl J Med. 1990; 322(3):166–72.
21. Check JH, et al. Falsely Elevated Steroidal Assay Levels Related to Heterophile Antibodies Against Various Animal Species. Gynecol Obstet Invest. 1995; 40(2):139–40.

## Умовні позначення:

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо для <N> випробувань
 Дата закінчення терміну придатності	<b>LOT</b> Код партії	<b>IVD</b> Тільки для ін вітро діагностики в лабораторних умовах!
 Звертайтеся до інструкції по експлуатації	<b>CONT</b> зміст	<b>CE</b> Маркування
 Обережно	<b>REF</b> Каталогний номер	