

EIA a catena L libera

Codice articolo

Versione del formato

000

K279L yEMA Co., Ltd.

9th Parkovaya str., 48, 105264 Mosca, Russia Tel./fax: +7(495)

510-57-07 e-mail: redkin@xema-medica.com



internet: www.xema-medica.com

Riepilogo

Oltre alle immunoglobuline normali, le catene leggere delle immunoglobuline libere (catene k, γ) sono presenti anche nel siero, nel liquido cerebrospinale e nelle urine di individui sani. Normalmente, piccole quantità di catene k, γ libere sono prodotte dalle cellule B e dalla proteolisi delle immunoglobuline normali.

Di recente, è stato scoperto che le catene k, γ libere esercitano attività proteolitica e anti-angiogenica e possono legarsi specificamente ai recettori dei mastociti per indurre reazioni di ipersensibilità. Livelli estremamente elevati di catene leggere di immunoglobuline libere nei fluidi biologici si trovano nella sclerosi multipla, nei disturbi linfoproliferativi, nell'artrite reumatoide, nel LES, nella nefrite acuta. Le catene k, γ libere hanno un'emivita breve rispetto alle immunoglobuline normali, ecco perché la determinazione della loro concentrazione dovrebbe essere raccomandata come utile strumento diagnostico per controllare l'efficacia del trattamento.

Principio del test

Questo test si basa sul principio dell'immunoanalisi enzimatica a sandwich a due siti. Il campione testato viene inserito nei micropozzetti rivestiti da anticorpi specifici anti-catena L libera. L'antigene del campione viene catturato dagli anticorpi rivestiti sulla superficie del micropozzetto. Il materiale non legato viene rimosso mediante procedura di lavaggio. I secondi anticorpi diretti verso un altro epitopo della catena L libera e marcati con l'enzima perossidasi vengono quindi aggiunti nei micropozzetti. Dopo la successiva procedura di lavaggio, l'attività enzimatica rimanente legata alla superficie del micropozzetto viene rilevata e quantificata mediante aggiunta di miscela cromogeno-substrato, soluzione di arresto e fotometria a 450 nm. La densità ottica nel micropozzetto è direttamente correlata alla quantità di analita misurata nel campione.

Contenuto del kit

	Codice	Descrizione	Quantità	Unità	Codice colore
1	P279L	strisce EIA L-catene libere, pozzetti 8x12	1	pz.	
2	N003	Nastro sigillante per piastre	2	pz.	
3	S011Z	Tampone EIA, 50 ml	1	pz.	blu
4	C279LZ	Set di calibratori, 1,1 ml ciascuno	1	pezzi	rosso (C1 incolore)
5	Q279LZ	Campione di controllo, 1,1 ml	1	pezzi	incolore
6	S008Z	Soluzione di lavaggio concentrata 26x, 22 ml	1	pz.	incolore
7	S012Z	Tampone EIA rosso, 14 ml	1	pezzi	rosso
8	T279LZ	Coniugato, 11 ml	1	pezzi	rosso
9	R055Z	Soluzione di substrato, 14 ml	1	pz.	incolore
10	R050Z	Soluzione di stop, 14 ml Istruzioni EIA L-	1	pezzi	incolore
11	K279LIR	Istruzioni EIA L-catene libere in russo	1	pezzi	
12	K279LIE	Istruzioni EIA L-catene libere, in inglese	1	pz.	
13	K279LQ	Scheda dati QC EIA L-chain gratuite	1	pz.	
*	il set contiene 7 calibratori: 0; 0,4; 0,8; 2,5; 5; 10; 25 γg/ml; e 1 campione di controllo				

Materiali richiesti ma non forniti

- Acqua distillata o deionizzata;

Attrezzatura necessaria

Fotometro per micropiastre con lunghezza d'onda di 450 nm e intervallo di misura OD 0-3,0.

Termostato a secco per 37°C.

Gestione delle note

1. PERICOLO DI INFEZIONE: Non sono disponibili metodi di test che possano garantire in modo assoluto che i virus dell'epatite B e C, l'HIV-1/2 o altri agenti infettivi non siano presenti nei reagenti di questo kit. Tutti i prodotti del sangue umano, compresi i campioni dei pazienti, devono essere considerati potenzialmente infettivi. La manipolazione e lo smaltimento di questo materiale devono essere conformi alle regole definite dalle appropriate linee guida locali sulla sicurezza dei rischi biologici.

2. Evitare il contatto con H₂SO₄ al 5%. Può causare irritazioni cutanee e ustioni.

3. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.

4. Non mescolare o utilizzare componenti di kit con numeri di lotto diversi.

5. Rimettere immediatamente i tappi sui reagenti. Non scambiare i tappi.

6. Non pipettare i reagenti con la bocca.

Condizioni di conservazione e stabilità

1. Conservare l'intero kit a una temperatura compresa tra 2 e 8°C dal momento del ricevimento fino alla data di scadenza.

2. Dopo l'apertura della busta, tenere i pozzetti per microtitolazione non utilizzati BEN SIGILLATI CON NASTRO ADESIVO (INCLUSO) per ridurre al minimo l'esposizione all'umidità.

Smaltimento del kit

I componenti del kit devono essere considerati materiale potenzialmente infettivo e smaltiti secondo le linee guida locali sulla sicurezza in materia di rischi biologici.

Raccolta e conservazione dei campioni

- 1. Questo kit è destinato all'uso con siero o plasma (ACD o eparinizzato). Si devono evitare campioni fortemente emolitici, lipemici o torbidi.
- 2. I campioni possono essere conservati fino a 48 ore a 2-8°C prima del test. Per una conservazione più lunga, i campioni devono essere congelati a -20°C o meno. Si devono evitare ripetuti congelamenti/scongelamenti.

Procedura di analisi

Preparazione del reagente

- 1. Tutti i reagenti (incluso il numero desiderato di microstrisce non sigillate) devono essere lasciati raggiungere la temperatura ambiente (da 18 a 25°C) prima dell'uso.
- 2. Tutti i reagenti devono essere miscelati capovolgendoli delicatamente o agitandoli con il vortex prima dell'uso. Non permettere la formazione di schiuma.
- 3. Preparare la soluzione di lavaggio di lavoro: diluire il concentrato di soluzione di lavaggio (S008Z) 1:26 in acqua distillata, ad esempio 1 ml di concentrato + 25 ml di acqua distillata. *Stabilità dopo la diluizione:* 5 giorni a 18-25°C o 30 giorni a 2-8°C.
- 4. Si consiglia di centrifugare brevemente le provette contenenti i calibratori in una centrifuga a bassa velocità.

Nota procedurale

Si raccomanda di completare il pipettaggio di tutti i calibratori e campioni entro 3 minuti.

Diagramma di flusso del test

Elaborazione del campione (Tabella M)

Tipo di materiale	Note sulla raccolta, conservazione e movimentazione dei materiali	Esempio di diluizione del campione	Tampone EIA rosso nel pozzetto, µl	Campione nel pozzetto, µl	Fattore di calcolo
siero o plasma del sangue	Si devono evitare campioni fortemente emolitici, lipemici o torbidi e si devono trattare mediante centrifugazione prima del test.	10 µl di campione + 1000 µl di tampone EIA	0	100	1
urina			95	5	0,2
liquido cerebrospinale			70	30	0,033

1	Inserire il numero desiderato di microstrisce nel telaio; allocare 14 pozzetti per i calibratori e i campioni di controllo e due pozzetti per ogni campione sconosciuto. NOTA: i pozzetti del calibratore/controllo e del campione sconosciuto sono riempiti in modo diverso. NON RIMUOVERE IL NASTRO ADESIVO SIGILLANTE DALLE STRISCE NON UTILIZZATE.
2	Diluire tutti i campioni utilizzando il tampone S011 (tampone EIA) 100 volte. Vedere la tabella M per le modalità di diluizione e i fattori per i diversi tipi di materiale analizzato. Non diluire il campione di controllo e i calibratori.
3	Se la concentrazione di analita suggerita nel campione supera il calibratore più elevato, diluire ulteriormente questo campione di conseguenza, utilizzando il reagente S011 (tampone EIA). L'uso di altri tamponi o reagenti per la diluizione del campione può portare a una misurazione errata.
4	Distribuire 100 µl di calibratori e controlli nei pozzetti assegnati. Per il test del siero sanguigno o del plasma, pipettare 100 µl del campione sconosciuto nei pozzetti assegnati. Vedere la tabella M per i volumi degli altri materiali. La distribuzione deve essere effettuata entro 3 minuti, per garantire un tempo di incubazione uniforme per tutti i campioni. Mescolare attentamente il contenuto dei pozzetti mediante una breve rotazione orizzontale della piastra per 5-7 secondi e coprire i pozzetti con nastro adesivo per piastre (incluso nel kit).
5	Incubare per 90 minuti a 37°C
6	Preparare la soluzione di lavaggio diluendo 26 volte il concentrato di soluzione di lavaggio (codice S008Z) con acqua distillata. La soluzione di lavaggio diluita è stabile per 2 settimane a +2-8°C. Lavare le strisce 3 volte
7	Distribuire 100 µl di coniugato nei pozzetti.
8	Incubare per 60 minuti a 37°C.
9	Lavare le strisce 5 volte.
10	Distribuire 100 µl di substrato nei pozzetti
11	Incubare 15 minuti a 20-25°C
12	Distribuire 100 µl di soluzione bloccante nei pozzetti.
13	Misurare la OD (densità ottica) a 450 nm.
14	Impostare il fotometro vuoto sul primo calibratore
* Applicare il metodo punto per punto per la riduzione dei dati. Utilizzare il fattore di calcolo elencato nella tabella M per calcolare la concentrazione dell'analita in diversi tipiologie di materiali.	

Vedere l'esempio di curva di calibrazione nell'inserito del Controllo Qualità.

Controllo di qualità

I campioni di controllo devono rientrare negli intervalli indicati nell'inserito QC (vedere allegato).

Valori attesi

Sulla base dei dati ottenuti da XEMA, si raccomandano i seguenti intervalli normali (vedere sotto). Tuttavia, le norme GLP raccomandano che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento.

Sesso, età	Unità, yg/ml	
	Limite inferiore	Limite superiore
Siero/plasma	2	6
urina	0,3	4