

catene K libere EIA

Cat.# K279K

Format version

408

XEMA Co., Ltd.

The 9th Parkovaya str., 48, 105264 Moscow, 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, λ) sono presenti anche nel siero, nel liquido cerebrospinale e nelle urine di individui sani. Normalmente, piccole quantità di catene k, λ libere sono prodotte dalle cellule B e dalla proteolisi delle immunoglobuline normali. Recentemente, è stato scoperto che le catene k, λ libere esercitano attività proteolitica e antiangiogenica e possono legarsi specificamente ai recettori dei mastociti per indurre reazioni di ipersensibilità. Livelli estremamente elevati di catene leggere delle immunoglobuline libere nei fluidi biologici si riscontrano nella sclerosi multipla, nei disturbi linfoproliferativi, nell'artrite reumatoide, nel LES e nella nefrite acuta. Le catene k, λ libere hanno un'emivita breve rispetto alle immunoglobuline normali: per questo motivo, 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 posizionato nei pozzetti rivestiti da anticorpi specifici anti-catena K libera. L'antigene del campione viene catturato dagli anticorpi rivestiti sulla superficie del pozzetto. Il materiale non legato viene rimosso mediante lavaggio. Un secondo anticorpo, diretto contro un altro epitopo della catena K libera e marcato con l'enzima perossidasi, viene quindi aggiunto ai pozzetti. Dopo il successivo lavaggio, la quantità di enzima rimanente legata alla superficie del pozzetto viene rilevata e quantificata mediante aggiunta di una miscela cromogeno-substrato, soluzione di stop e fotometria a 450 nm. La densità ottica nel pozzetto è direttamente correlata alla quantità di analita misurata nel campione.

CONTENUTO DEL KIT

	Codice	Descrizione	Qtà	Unità	Codice colore
1	P279K	strisce EIA a catene K libere, pozzetti 8x12	1	pz	
2	N003	Nastro sigillante per piastre	2	pz	
3	S011Z	Tampone EIA, 50 ml	1	pz	blu
4	C279KZ	Set di calibratori, 1,1 ml ciascuno *	1	pz	Rosso (C1 incolore)
5	Q279KZ	Campione di controllo, 1,1 ml	1	pz	incolore
6	S008Z	Soluzione di lavaggio concentrata 26x, 22 ml	1	pz	incolore
7	S012Z	Tampone EIA rosso, 14 ml	1	pz	rosso
8	T279KZ	Coniugato, 11 ml	1	pz	rosso
9	R055Z	Soluzione di substrato, 14 ml	1	pz	incolore
10	R050Z	Soluzione di arresto, 14 ml	1	pz	incolore
11	K279KIR	Istruzioni per l'EIA delle catene K libere, russo	1	pz	
12	K279KIE	Istruzioni per l'EIA delle catene K libere, inglese	1	pz	
13	K279KQ	Scheda dati QC catene K libere EIA	1	pz	
*	Il set contiene 7 calibratori: 0, 1, 2, 5, 10, 20; 50 μ g/ml; e 1 campione di controllo				

Materiali richiesti ma non forniti

- Acqua distillata o deionizzata.

ATTREZZATURA NECESSARIA

1. Fotometro per micropiastre con lunghezza d'onda di 450 nm e intervallo di misura della densità ottica 0-3,0.
2. Termostato a secco per 37°C

NOTE SULLA MANIPOLAZIONE

1. PERICOLO DI INFEZIONE: Non sono disponibili metodi di analisi che possano garantire con assoluta certezza 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 ematici umani, compresi i campioni dei pazienti, devono essere considerati potenzialmente infettivi. La manipolazione e lo smaltimento di questo materiale devono essere conformi alle norme definite dalle linee guida locali sulla sicurezza in materia di rischio biologico.
2. Evitare il contatto con H₂SO₄ al 5%. Può causare irritazioni e ustioni cutanee.
3. Do not use reagents after expiration date.
4. Non mescolare o utilizzare componenti di kit con numeri di lotto diversi.
5. Richiudere immediatamente i tappi dei 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 della ricezione fino alla data di scadenza.
2. Dopo l'apertura della busta, tenere i pozzetti della 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). Evitare campioni fortemente emolitici, lipemici o torbidi.

2. I campioni possono essere conservati fino a 48 ore a 2-8 °C prima dell'analisi. Per una conservazione più lunga, i campioni devono essere congelati a -20 °C o a temperature inferiori. Evitare ripetuti cicli di congelamento/scongelamento.

PROCEDURA DI ANALISI

Reagent Preparation

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 agitando su vortex prima dell'uso. Evitare la formazione di schiuma.
3. Preparare la soluzione di lavaggio di lavoro: diluire la soluzione di lavaggio concentrata (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 di analisi

Elaborazione del campione (Tabella M)

Tipo di materiale	Note sulla raccolta, conservazione e manipolazione dei materiali	Esempio di diluizione del campione	Tampone EIA rosso nel pozzetto, µl	Campione nel pozzetto, µl	Fattore di calcolo
siero sanguigno o plasma	I campioni fortemente emolitici, lipemici o torbidi devono essere evitati e devono essere trattati 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 16 pozzetti per i calibratori e i campioni di controllo e due pozzetti per ciascun campione incognito. NOTA: i pozzetti del calibratore/controllo e del campione incognito 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 e i fattori di diluizione per i diversi tipi di materiale analizzato. Non diluire il campione di controllo e i calibratori.
3	Se la concentrazione dell'analita suggerita nel campione supera il calibratore più elevato, diluire ulteriormente il campione di conseguenza, utilizzando il reagente S011 (tampone EIA). L'uso di altri tamponi o reagenti per la diluizione del campione può portare a misurazioni errate.
4	Dispensare 100 µl di calibratori e controlli nei pozzetti assegnati. Per l'analisi del siero o del plasma, pipettare 100 µl del campione incognito nei pozzetti assegnati. Vedere la tabella M per i volumi degli altri materiali. La dispensazione deve essere effettuata entro 3 minuti, per garantire un tempo di incubazione uniforme per tutti i campioni. Mescolare accuratamente il contenuto dei pozzetti ruotando brevemente la piastra orizzontalmente per 5-7 secondi e coprire i pozzetti con il nastro adesivo per piastra (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 per 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 tipi di materiale.

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

CONTROLLO 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 di riferimento (vedi sotto). Tuttavia, le norme GLP raccomandano che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento.

Sesso, età	Unità, µg/ml	
	Limite inferiore	Limite superiore
Donatori sani	6.0	13
Urina	3.0	8.0
Liquido cerebrospinale	-	0.04

