



Catene L libere EIA

Cat.# K279L

Versione del formato 000

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, nel siero, nel liquido cerebrospinale e nelle urine degli individui sani sono presenti anche le catene leggere delle immunoglobuline libere (catene k, λ). Normalmente, piccole quantità di catene k, λ libere vengono prodotte dalle cellule B e anche dalla proteolisi delle immunoglobuline normali. Di recente 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 di 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: 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 da analizzare viene posizionato nei pozzetti rivestiti con anticorpi specifici anti-catena L libera. L'antigene presente nel campione viene catturato dagli anticorpi adsorbiti sulla superficie del pozzetto. Il materiale non-legato viene rimosso mediante lavaggio. Vengono poi aggiunti ai pozzetti dei secondi anticorpi diretti verso un altro epitopo della catena L libera e marcati con l'enzima perossidasi. Dopo la successiva procedura di lavaggio, l'attività enzimatica residua legata alla superficie del pozzetto viene rilevata e quantificata mediante aggiunta della miscela cromogeno-sostituto, 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	Quantità	Unità	Codice colore
1	P279L	Catene L libere strisce EIA, pozzetti 8x12	1	pezzi	
2	N003	Pellicola sigillante per piastre	2	pezzi	
3	S011Z	Tampone EIA, 50 ml	1	pezzi	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	pezzi	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	pezzi	incolore
10	R050Z	Soluzione di arresto, 14 ml	1	pezzi	incolore
11	K279LIR	Istruzioni, EIA catene L libere, russo	1	pezzi	
12	K279LIE	Istruzioni, EIA catene L libere, inglese	1	pezzi	
13	K279LQ	Scheda dati QC EIA catene L libere	1	pezzi	
*	Il set contiene 7 calibratori: 0; 0,4; 0,8; 2,5; 5; 10; 25 µg/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 della densità ottica (OD) 0-3,0.

Termostato a secco per 37°C.

Note sulla gestione

1. PERICOLO DI INFEZIONE: Non sono disponibili metodi di analisi in grado di garantire con assoluta certezza l'assenza di virus dell'epatite B e C, HIV-1/2 o altri agenti infettivi 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. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.
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 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 in conformità alle 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

Preparazione dei reagenti

1. Tutti i reagenti (incluso il numero desiderato di microstrisce non sigillate) devono essere portati a temperatura ambiente (da 18 a 25 °C) prima dell'uso.
2. Tutti i reagenti devono essere miscelati capovolgendoli delicatamente o agitando con un 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 prova

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	Si devono evitare campioni fortemente emolitici, lipemici o torbidi e si deve procedere alla 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 ciascun campione incognito. NOTA: i pozzetti per i calibratori/controlli e per i campioni incogniti sono riempiti in modo diverso. NON RIMUOVERE IL NASTRO ADESIVO DI SIGILLO 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 causare misurazioni errate.
4	Dispensare 100 µl di calibratori e controlli nei pozzetti assegnati. Per l'analisi di siero o 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 in orizzontale per 5-7 secondi e coprire i pozzetti con il 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 per 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 densità ottica (OD) 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 del Controllo Qualità.

Controllo di qualità

I campioni di controllo devono rientrare negli intervalli indicati nel foglietto illustrativo (vedere allegato).

Valori previsti

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
Siero/plasma	2	6
urina	0.3	4