

# PATHOZYME® ElisaSure Ref OD707

## Do wykonywania rutynowych badań wydajności płuczek do mikroplutek, czytników mikroplutek, pipet i zestawów pipetowych

### Przechowywać w temp. od 2 °C do 8 °C. NIE ZAMRAŻAĆ.

#### WSTĘP

Przyrządy i urządzenia stanowią istotną część procedur badawczych wykorzystujących mikroplutek. Ich wydajność musi mieć charakter powtarzalny w zakresie znanych parametrów pomiędzy okresami konserwacji i po naprawie w celu zapewnienia prawidłowych wyników przy użyciu łatwych i wygodnych metod.

Zestaw Pathozyme ElisaSure umożliwia wykonanie testów wszystkich płuczek do płytek 96-dokłowych, czytników mikroplutek, ręcznych i automatycznych zestawów pipetowych.

Regularne używanie zestawu badawczego Pathozyme ElisaSure pozwala na uzyskanie udokumentowanych rejestrów wydajności sprzętu, a także przyczynia się do wczesnego wykrywania nieprawidłowości i usuwania problemów dzięki wykorzystaniu czterech oddzielnych kontroli sprzętu.

W przypadku uzyskania nieoczekiwanych wyników występujących w trakcie badania próbek regularne kontrolowanie oferuje środki do wykonania porównania bieżącej i uprzedniej wydajności, a dzięki jego włączeniu do harmonogramu konserwacji laboratorium pozwala na uzyskanie pewności pod względem wydajności sprzętu.

Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

#### PRZEZNACZENIE

Pathozyme ElisaSure oferuje środki umożliwiające kontrolę liniowości i precyzji czytników mikroplutek, wydajności i odzwierciedlenia płuczek do mikroplutek oraz precyzji pipet ręcznych i automatycznych.

#### ZASADA BADANIA

Liniowość czytnika mikroplutek

Rozcieńczenia barwnego roztworu odczytuje się przy odpowiedniej długości fali 405, 450 lub 492 nm.

Ustala się zakres czytników i liniowości.

Badanie precyzji czytnika mikroplutek i płuczek do mikroplutek  
Do dołek mikroplutek dodaje się roztwór zawierający peroksydazę chrzanową (HRP) i dokonuje odczytu w zakresie 405, 450 lub 492 nm. Mikrodołki poddaje się płukaniu. Po dodaniu substratu (TMB) pojawia się zabarwienie wyłącznie w dołkach, w których obecna jest peroksydaza chrzanowa. Reakcja zostaje zatrzymana po dodaniu rozcieńzonego kwasu siarkowego, mierząc następnie wartość absorpcji w zakresie 405, 450 lub 492 nm. Poziom pozostałej peroksydazy chrzanowej jest wprost proporcjonalny do intensywności zabarwienia i wydajności płuczek do płytek 96-dokłowych.

Badanie urządzeń pipetujących

Po przygotowaniu podwójnego rozcieńczenia barwnika przenosi się go do dołek mikroplutek i odczytuje przy odpowiedniej długości fali 405, 450 lub 492 nm. Stopień różnicy w średniej gęstości optycznej i poziom współczynnika zmienności CV% stanowi wskaźnik odzwierciedlenia dozowanej objętości.

Nie istnieją normy międzynarodowe dla tego badania.

Ref  
OD707

#### ZAWARTOŚĆ



<b>Microtitre Plate</b> Mikroplutka lamana	12 pasków x 8 dołek w x1
<b>Dye</b> <b>Conc</b> Koncentrat barwnika z białkowymi środkami stabilizującymi (Czerwony)	1 ml
<b>Conj</b> Sprężone przeciwciała przeciw-ludzkiej IgG: Przeciwciała przeciw-ludzkiej IgG znakowane peroksydazą chrzanową. Gotowe do użycia. (Purpurowe)	15 ml
<b>Washbuf</b> <b>20X</b> Koncentrat roztworu płuczającego: Buffer Tris zawierający detergenty. (Bezbarwny)	50 ml
<b>Subs</b> <b>TMB</b> Roztwór substratu: 3,3', 5,5' Tetrametylobenzodyna w buforze octanowym. Gotowy do użycia. (Bezbarwny)	15 ml
<b>Solin</b> <b>Stop</b> <b>H2SO4</b> <b>0.2M</b> Roztwór zatrzymujący reakcję: Kwas siarkowy rozcieńczony w oczyszczonej wodzie. Gotowy do użycia. (Bezbarwny)	15 ml
Instrukcja oraz papier milimetrowy	1 + 1

#### MATERIAŁY WYMAGANE NIE ZAWARTE W ZESTAWIE

Probówki  
Czytnik mikroplutek  
Płuczka do mikroplutek  
Pipety  
Dokładnie oczyszczone szkło laboratoryjne  
Woda oczyszczona

#### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Odczynniki Pathozyme ElisaSure nie zawierają substancji niebezpiecznych zdefiniowanych w obowiązujących przepisach brytyjskich w sprawie substancji chemicznych (informacje o substancjach niebezpiecznych i opakowanie do celów dostaw). W trakcie używania i utylizacji należy jednak wszystkie odczynniki uznać za potencjalnie zagrożenie biologiczne. Ostateczne usuwanie należy prowadzić zgodnie z przepisami lokalnymi.

Roztwór zatrzymujący reakcję Pathozyme ElisaSure stanowi rozcieńczony kwas siarkowy, który jest substancją o działaniu żrącym. Należy z nim postępować ostrożnie. W razie kontaktu dokładnie spłukać wodą.

Odczynniki Pathozyme ElisaSure zawierają, jako środek konserwujący, 1% Proclin™ 300®, który w razie połknięcia może być toksyczny. W razie

kontaktu dokładnie przepłukać bieżącą wodą i skontaktować się z lekarzem.

\*Proclin™ 300 jest znakiem towarowym należącym do ROHM & HAAS Limited.

#### PRZECHOWYWANIE

Odczynniki należy przechowywać w temperaturze od 2 °C do 8 °C.

Data ważności jest ostatni dzień miesiąca podany na butelce i etykiecie zestawu.

Zestaw można używać do podanej daty ważności określonej od daty produkcji wyrobu i podanej na zestawie oraz elementach składowych. Nie używać odczynników po dacie ważności.

Należy unikać wystawiania odczynników na działanie nadmiernych temperatur. Nie wystawiać na bezpośrednie działanie promieni słonecznych.

NIE ZAMRAŻAĆ ODCZYNNIKÓW, ponieważ prowadzi to do ich nieodwracalnego uszkodzenia.

#### PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Przed użyciem należy wszystkie odczynniki przenieść do temperatury pokojowej (od 20 °C do 25 °C) i delikatnie wymieszać. Nie powodować pienienia.

Buforowy roztwór płuczający

Rozcieńczyć skoncentrowany buforowy roztwór płuczający, używając 1 części koncentratu buforowego roztworu płuczającego w 19 częściach wody destylowanej. Na każdy odmiawiany pasek z ośmioma dołkami przygotować 25 ml rozcieńzonego buforowego roztworu płuczającego, dodając 1,25 ml skoncentrowanego buforowego roztworu płuczającego do 23,75 ml wody destylowanej. Przygotować świeży, rozcieńczony buforowy roztwór płuczający przed każdą serią prób. Dostarczany dodatkowy buforowy roztwór płuczający umożliwia zalewanie płuczek automatycznych.

#### OGRANICZENIA W UŻYCIU

Przedstawione poziomy podano wyłącznie do celów informacyjnych. W celu uzyskania poziomów określonych dla poszczególnych urządzeń lub ich ustalenia należy zapoznać się z instrukcją obsługi producenta.

Zastosowanie opisanego wyrobu nie zastępuje kalibracji przyrządów.

Dla opisanego wyrobu nie istnieje protokół ponownego użycia.

#### REKOMENDOWANY SCHEMAT WYKONYWANIA TESTÓW

	TEST		
	LINIOWOŚĆ	PRECYZJA/ PŁUCZKA	PIPETY
OKRES	RAZ W MIESIĄCU	RAZ W MIESIĄCU	RAZ W MIESIĄCU
MATERIAŁY	2 paski		1 pasek
	2 paski		
TOTAL	2 paski / Miesiąc	8 paski / Miesiąc	2 paski / Miesiąc

#### LINIOWOŚĆ CZYTNIKA MIKROPLUTEK

#### PROCEDURA OZNACZANIA

Zaleca się wykonywanie oznaczeń raz w miesiącu, w przypadku napotkania niewiarygodnych wyników badań oraz po naprawie lub konserwacji.

- Przed wykonaniem testu wszystkie elementy zestawu doprowadzić do temperatury pokojowej (20°C do 25°C).
- Przygotować 10-ciokrotne rozcieńczenie roztworu barwnika, poprzez dodanie 100 µl stężonego barwnika do 900 µl wody destylowanej, a następnie dobrze wymieszać.
- Umieścić dwa paski z dołkami w ramce.
- Nieużywane paski z dołkami należy szczelnie zamknąć, w woreczku foliowym, zawierającym środek osuszający, za pomocą zamknięcia zip-lock i umieścić w temperaturze 2°C do 8°C.

W odniesieniu do tabeli poniżej:

- Dodać 100 µl oczyszczonej wody do dołka A i dołek od C do H włącznie.
- Dodać 100 µl przygotowanego roztworu barwnika do dołka B i do dołka C.
- Przygotować kolejne roztwory metodą wielokrotnych rozcieńczeń w stosunku 1 : 1 przenosząc 100 µl objętości od dołka C do dołka H.
- Dobrze wymieszać przed każdorazowym przeniesieniem.
- Wyrzucić 100 µl objętości pozostających w pipecie po zabraniu roztworu z dołka H.
- Wyzerować czytnik mikroplutek wobec roztworu z dołka A.
- Zmierzyć gęstość optyczną (OD) odpowiednio przy długościach fali 405, 450 lub 492 nm.

Studzienki (dołki mikroplutek)	Rozcieńczenie Barwników	
	Powtórzenie 1	Powtórzenie 2
A	Kolumna 1	Kolumna 2
	Czysty (Bez Barwnika)	Czysty (Bez Barwnika)
B	1/10	1/10
C	1/20	1/20
D	1/40	1/40
E	1/80	1/80
F	1/160	1/160
G	1/320	1/320
H	1/640	1/640

#### OBLICZANIE WYNIKÓW I OCZEKIWANE WARTOŚCI

Wykreślić wykres gęstości optycznej(OD) w zależności od rozcieńczenia na papierze liniowo-logarytmicznym

Wykres zależności kolejnych rozcieńczeń od gęstości optycznej (OD) powinien być liniowy w zakresie do 1.0 (skonfrontować z instrukcją obsługi producenta maszyny).

Dane uzyskane powinny zostać odniesione do poprzednich danych w celu monitorowania działania czytnika.

Powtarzalność pomiędzy dwoma paskami mikroplutek potwierdza precyzję pipetowania i metody.

Patrz Rysunek 1 na końcu instrukcji.

## BADANIE PRECYZJI CZYNIKA MIKROPLYTEK I PŁUCZKI DO MIKROPLYTEK

### PROCEDURA OZNACZANIA

Zaleca się wykonywanie oznaczeń raz w tygodniu, w przypadku napotkania niewiarygodnych wyników badań oraz po naprawie lub konserwacji.

- Przed wykonaniem testu wszystkie elementy zestawu doprowadzić do temperatury pokojowej (20°C do 25°C).
- Umieścić dwa paski z dolkami w ramce.
- Nie używane paski z dolkami należy szczelnie zamknąć w woreczku foliowym, zawierającym środek osuszający, za pomocą zamknięcia zip-lock i umieścić w temperaturze 2°C do 8°C. W odniesieniu do tabeli poniżej:
- Dodać 100 µl koniugatu do każdego wgłębienia.
- Wyzerować czytnik mikroplatek wobec powietrza.
- Zmierzyć gęstość optyczną (OD) odpowiednio przy 405, 450 lub 492 nm. Odczyty służą do obliczenia precyzji czytnika mikroplatek.
- Przemyc płytki cztery razy roztworem płuczającym. (Zmniejszenie liczby płukań zwiększa czułość testu - zwiększenie liczby płukań zmniejsza czułość testu).
- Do każdego dolka dodać 100 µl roztworu substratu.
- Inkubować w ciemności w temperaturze pokojowej (20°C do 30°C) przez 10 minut.
- Do każdego dolka dodać 100 µl roztworu hamującego.
- Wyzerować czytnik mikroplatek wobec powietrza.
- NATYCHMIAST zmierzyć absorbancję każdego dolka odpowiednio przy 405, 450 lub 492 nm. Odczyty te są stosowane do obliczania wydajności płuczek mikroplatek.
- W przypadku zastosowania referencyjnej długości fali pomiędzy 600 a 650 nm odczyty mogą być niższe.

rząd	Kolumna 1	Kolumna 2
A		
B		
C		
D		
E		
F		
G		
H		

### OBLICZANIE WYNIKÓW I OCZEKIWANE WARTOŚCI

#### PRECYZJA CZYNIKA MIKROPLYTEK

- Wyliczyć średnią absorbancję (OD) z odczytów dla punktu 6.
- Średnia wartość dla przeprowadzonych testów nie powinna się różnić więcej niż 10%.
- Obliczyć odchylenie standardowe, następnie podzielić przez średnią i wynik pomnożyć przez 100. Uzyskana wartość to współczynnik zmienności (CV%). Za prawidłowe przyjmuje się współczynniki CV% < 5%.

#### Rysunek Nr 2.

#### TEST PŁUCZEK MIKROPLYTEK

- Należy użyć odczytów uzyskanych w punkcie 12 powyżej.
- Odczyty indywidualne > 0,10 wskazują nieefektywne mycie.
- Jeśli odczyty są powyżej tego limitu testy powinny być powtórzone, a dodatkowo należy wykonać procedurę producenta związaną z problemami ze sprzętem.

#### Rysunek Nr 3.

### TEST URZĄDZEŃ PIPETUJĄCYCH

#### PROCEDURA OZNACZANIA

Zaleca się wykonywanie oznaczeń co dwa tygodnie, a także w przypadku uzyskania niewiarygodnych wyników badań oraz po naprawie lub konserwacji.

#### Pipetowanie ręczne:

- Przed wykonaniem testu wszystkie elementy zestawu doprowadzić do temperatury pokojowej (20°C do 25°C).
- Przygotować 10-krotne rozcieńczenie roztworu barwnika, poprzez dodanie 10 µl stężonego barwnika do 90 µl wody destylowanej, a następnie dobrze wymieszać.
- Umieścić co najmniej osiem dółków (1 pasek) w ramce.
- Nie używane paski z dolkami należy szczelnie zamknąć, w woreczku foliowym, zawierającym środek osuszający, za pomocą zamknięcia zip-lock i umieścić w temperaturze 2°C do 8°C.
- Do każdego dolka dodać 10 µl przygotowanego roztworu barwnika.
- Do każdego dolka dodać 90 µl wody oczyszczonej.
- Wyzerować czytnik mikroplatek wobec powietrza.
- Zmierzyć absorbancję odpowiednio przy 405, 450 lub 492 nm.

#### Pipetowanie automatyczne:

- Przed wykonaniem testu wszystkie elementy zestawu doprowadzić do temperatury pokojowej (20°C do 25°C).
- Przygotować osiem fiolek z których każda będzie zawierać nierozcieńczony roztwór barwnika.
- Umieścić co najmniej osiem dółków (1 pasek) w ramce.
- Zaprogramować pipetę automatyczną do przygotowania rozcieńczenia 100-krotnego przy użyciu wody oczyszczonej.
- Wyzerować czytnik mikroplatek wobec powietrza.
- Zmierzyć absorbancję odpowiednio przy 405, 450 lub 492 nm.

### OBLICZANIE WYNIKÓW

- Obliczyć średnią absorbancję (OD) dla punktów 8 i 6 powyżej.
- Dla obu zestawów danych obliczyć odchylenie standardowe, następnie podzielić przez średnią i wynik pomnożyć przez 100.
  - uzyskane wartości to współczynnik zmienności (CV%).
  - obie wartości powinny być mniejsze niż 5%.
  - różnica między dwoma wartościami powinna być w granicach 5%.
- Uzyskane dane powinny być porównywane w stosunku do poprzednich danych w celu monitorowania zmian w czasie.

### ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW

- Do użycia w laboratorium przez wykwalifikowany personel.
- Nie należy używać uszkodzonych lub zanieczyszczonych komponentów zestawu.
- Należy używać oddzielnych końcówek jednorazowych dla każdej próbki, aby zapobiec zanieczyszczeniu.
- Zakręcać wszystkie odczynniki bezpośrednio po użyciu.
- Unikać powtórnego pipetowania z zapasu odczynników, ponieważ może być to powodem zanieczyszczenia.
- Nie mieszać odczynników lub opłaszczonych kubeczków mikroplatek z różnych zestawów. Zachować szczególną uwagę aby nie dotykać ścian kubeczków w trakcie ich rozdzielania.
- Nie wolno dopuścić, by odczynnik spływał po bokach wgłębien.
- Przed rozpoczęciem testu należy doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej (20°C do 25°C). Wymieszać wszystkie odczynniki przez delikatnie odwracanie lub obracanie probówki.
- W trakcie wykonywania testu nie można dopuścić do wysuszenia wgłębien.
- Nie można zanieczyścić roztworu substratu, ponieważ test nie będzie zdalny do użycia.

Nie używane paski mikroplatek należy szczelnie zamknąć w woreczku foliowym, zawierającym środek osuszający, zamknąć szczelnie za pomocą zamknięcia zip-lock i umieścić w temperaturze 2°C do 8°C. Porady techniczne dotyczące poszczególnych ustawień, rozwiązywania problemów, kalibracji lub naprawy odnoszących się do konkretnych urządzeń należy szukać w instrukcji obsługi odpowiednich urządzeń.

### REFERENCJE

- Wild, D. (1994). The Immunoassay Handbook. Stockton Press, New York.

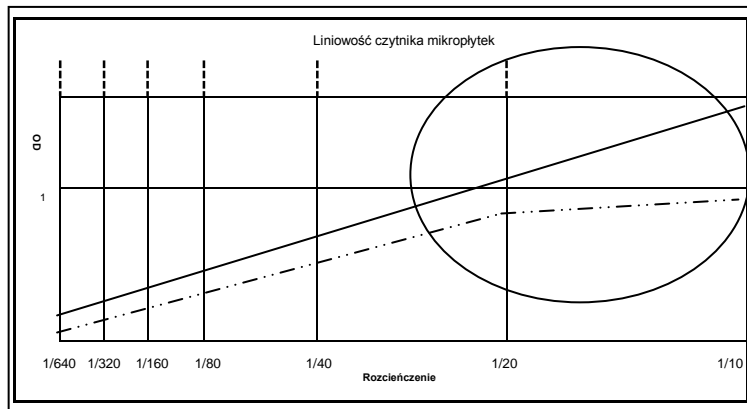
8150 ISSUE 4B Revised March 2015 POLISH

© Omega Diagnostics Ltd 2015

#### Ryc.1

Liniiowość czytnika mikroplatek (PRZYKŁAD)

————— Czytnik A  
 - - - - - Czytnik B



Wyniki:

Czytnik A - Liniowy dla OD 1.0  
 Czytnik B - Nieliniowy dla OD 1.0

#### Ryc.2

Precyzja czytnika mikroplatek (przykładowe wyniki)

Rząd	Absorbancja (OD)			
	Czytnik A		Czytnik B	
A	0.431	0.417	0.430	0.424
B	0.435	0.427	0.613	0.625
C	0.425	0.420	0.620	0.613
D	0.418	0.421	0.426	0.419
E	0.429	0.418	0.419	0.416
F	0.415	0.422	0.422	0.429
G	0.414	0.430	0.418	0.412
H	0.425	0.433	0.427	0.417

Interpretacja przykładowych wyników:

Czytnik A Akceptowalne – Średnia 0.423 SD 0.00639 CV% 1.51  
 Czytnik B Nie Akceptowalne – Średnia 0.470 SD 0.0851 CV% 18.11 (Więcej niż 5%)  
 Znotowano wyższe odczyty w rzędach B i C – Wymagane dalsze próby.

#### Ryc.3

Test płuczki mikroplatek (przykładowe wyniki)

Rząd	Absorbancja (OD)			
	Czytnik A		Czytnik B	
A	0.045	0.042	0.043	0.039
B	0.042	0.040	0.041	0.042
C	0.047	0.040	0.041	0.045
D	0.045	0.043	0.145	0.139
E	0.044	0.045	0.140	0.142
F	0.042	0.041	0.042	0.039
G	0.044	0.047	0.039	0.040
H	0.047	0.044	0.044	0.043

Przykładowa interpretacja wyników:

Płuczka A Akceptowalne  
 Płuczka B Nie Akceptowalne – Znotowano wyższe wyniki w Rzędzie D i E – wymagane dalsze próby.

