

sebia

HYDRAGEL 7 β1-β2

Ref. 4101

HYDRAGEL 15 β1-β2

Ref. 4121

HYDRAGEL 30 β1-β2

Ref. 4141

IVD

CE

R_xonly

2020/07

POUŽITÍ KITU

HYDRAGEL 7, 15 a 30 B1-B2 kity jsou určeny k elektroforetickému rozdělení bílkovin lidského séra a moči do šesti hlavních frakcí na alkalicky pufovaných agarózových gelech o pH 8.6. Normální bílkoviny lidského séra by se měly rozdělit na pět hlavních frakcí. Separované bílkoviny jsou obarveny roztokem amidočerní. Kity jsou určeny k použití ve spojení se systémem HYDRASYS. Vyhodnocení je buď vizuální nebo densitometrické (relativní kvantifikace jednotlivých zón).

Každý agarózový gel je určen k analýze :

- 7-mi vzorků (HYDRAGEL 7 B1-B2 kit),
- 15-ti vzorků (HYDRAGEL 15 B1-B2 kit),
- 30-ti vzorků (HYDRAGEL 30 B1-B2 kit).

Určeno pro diagnostické použití *in vitro*.

POZNÁMKA : V tomto návodu se název "HYDRASYS" používá pro poloautomatické přístroje HYDRASYS a HYDRASYS 2.

PRINCIP TESTU

Elektroforéza bílkovin je běžnou technikou rutinně používanou klinickými laboratořemi ke skrínungu abnormalit bílkovin séra a některých dalších biologických tekutin. Agaróza slouží jako univerzální a efektivní podpurné medium. V diagnostických aplikacích se v ní sérum dělí na pět hlavních frakcí (např. HYDRAGEL PROTEIN(E)) dle jejich náboje při daném pH. Pokud je požadováno větší rozlišení, pak lze bílkoviny rozdělit do 6 hlavních frakcí - HYDRAGEL B1-B2 kity : albumin, α 1 a α 2-globuliny, B1 a B2-globuliny a γ -globuliny. Každá zóna obsahuje jeden a více sérových proteinů. Elfogram bílkovin moče je podobný rozdělení bílkovin v séru, avšak intenzita frakcí závisí na filtrační schopnosti ledvin.

REAGENCIE A MATERIÁL OBSAŽENÝ V KITECH HYDRAGEL 7, 15 A 30 B1-B2

VAROVÁNÍ : Viz bezpečnostní listy.

POLOŽKY	KAT. Č. 4101	KAT. Č. 4121	KAT. Č. 4141
Agarózové gely (připraveny k použití)	10 gelů	10 gelů	10 gelů
Houbičky s puforem (připraveny k použití)	10 bal. po 2 ks	10 bal. po 2 ks	10 bal. po 2 ks
Ředící roztok pro amidočerní (zásobní roztok)	1 lahv. 60 mL	1 lahv. 60 mL	1 lahv. 60 mL
Amidočerní (zásobní roztok)	1 lahv. 20 mL	1 lahv. 20 mL	1 lahv. 20 mL
Aplikátory (připraveny k použití)	1 bal. po 10 ks (7 zubů)	1 bal. po 10 ks (15 zubů)	2 bal. po 10 ks (15 zubů)
Tenké filtrační papíry	1 bal. po 10 ks	1 bal. po 10 ks	1 bal. po 10 ks

OPTIMÁLNÍ ŘÍZENÍ VYSLEDOVATELNOSTI : Všechna činidla ze stejné sady se musejí používat společně.

DOSAŽENÍ OČEKÁVANÝCH VÝKONŮ : Musí se dodržovat pokyny z příbalového letáku.

1. AGARÓZOVÉ GELY

Příprava

Agarózové gely jsou připraveny k použití. Každý gel obsahuje : agarózu ; tlumicí roztok pH 8.6 \pm 0.5 ; přídavné látky nezbytné nutné pro optimální provedení, v koncentracích pro člověka neškodných.

Použití

Nosné medium pro elektroforezu.

Skladování, stabilita a známky poškození

Skladujte v horizontální poloze v originálních ochranných obalech – šipkou na přední straně krabice směrem nahoru. Lze skladovat při pokojové teplotě (15 - 30 °C) nebo v chladničce (2 - 8 °C). Zamezit prudkým změnám teploty – neskladovat v blízkosti oken nebo tepelného zdroje.

Stabilní do doby expirace vyznačené na krabici či na obalech gelů.

NEMRAZIT!

Nepoužívejte :

- v případě nálezu krystalů nebo precipitátů na povrchu gelů a pokud struktura gelu v důsledku zmrazení změkne,
- jsou-li přítomny mikroby a plísně,
- abnormální množství tekutiny v obalu gelu (výsledek vypocení pufru z gelu v důsledku nesprávného skladování).

2. PUFROVANÉ STRIPY

Příprava

Pufrované houbovitě proužky (stripy) jsou připraveny k použití. Každý obsahuje : tlumicí roztok s pH 8.5 \pm 0.5 ; přídavné látky nezbytné nutné pro optimální provedení, v koncentracích pro člověka neškodných.

Použití

Slouží jako rezervoár pufru a zajišťují kontakt mezi gelem a elektrodami.

Skladování, stabilita a známky poškození

Skladovat při pokojové teplotě nebo v chladničce.

Jsou stabilní nejméně do data expirace vyznačeného na balení kitu či na štítcích jednotlivých balení.

NEMRAZIT!

Nepoužívejte stripy z otevřených balení nebo stripy vyschlé.

3. ŘEDÍCÍ ROZTOK PRO AMIDOČERNĚ

Příprava

Zásobní ředící roztok barvicího roztoku musí být použit podle pokynů v odstavci "AMIDOČERNĚ". Obsahuje kyselý roztok pH ≈ 2.

Použití

Příprava barvicího roztoku s amidočerní.

Skladování, stabilita, známky znehodnocení roztoku

Zásobní roztok ředícího roztoku pro amidočerně se skladuje při pokojové teplotě nebo při teplotě 2 - 8 °C. Zásobní roztok je stabilní do data expirace vyznačeného na obalu či na štítku lahvičky. NEMRAZIT.

Nepřidávat azid sodný.

4. AMIDOČERNĚ

Příprava

Koncentrát amidočerní je viskózní roztok, který může gelovatět. Citlivost zásobního barvicího roztoku není změněna zvýšením viskozity nebo ztuhnutím.

V každém případě je pro dosažení správného rozpuštění barvicího roztoku nutné dodržet následující postup :

1. Přidejte 15 mL ředícího roztoku pro amidočerně do lahvičky s koncentrovanou amidočerní.
2. Pečlivě uzavřete lahvičku.
3. Lahvičku pořádně protřepejte po dobu cca 5 sekund.
4. Přelijte tento roztok do odměrného válce pro přípravu barvicího roztoku.
5. Opakujte tento krok 2 – 3x, až do úplného rozpuštění koncentrované amidočerní.
6. Nalijte zbylý obsah lahvičky s ředícím roztokem pro amidočerně do odměrného válce a doplňte do 300 mL destilovanou nebo deionizovanou vodou
7. Promíchávejte obsah válce po dobu 5 - 10 minut.

Barvicí roztok je připraven k použití.

POZN. : *Nesprávná příprava barvicího roztoku povede k nedostatečnému barvení albuminové frakce (nízká procentuální hodnota světlého středu frakce).*

Pracovní barvicí roztok po naředění obsahuje : kyselý roztok o pH ≈ 2 ; amidočerně ; ethylenglykol ; přídavné látky nezbytně nutné pro optimální provedení, v koncentracích pro člověka neškodných.

Použití

Barvení gelů s rozdělenými bílkovinami po elektroforéze.

DŮLEŽITÉ : Barvicí roztok je určen k obarvení pouze 10 gelů. Roztok vyměřte po 10 použitích k barvení.

Skladování, stabilita, známky znehodnocení roztoku

Zásobní i pracovní barvicí roztok se skladuje při pokojové teplotě nebo v chladničce v těsně uzavřených nádobách tak, aby nedošlo k odpařování. Zásobní barvicí roztok je stabilní do data expirace vyznačeného na obalu sady nebo na štítku lahvičky rozpouštědla pro barvicí roztok.

Pracovní barvicí roztok je stabilní 1 měsíc. Stabilita roztoku může být prodloužena na 3 měsíce, pokud je uchováván v chladničce. Ihned po použití musí být uzavřené nádoby uloženy v chladničce.

Neskladujte pracovní barvicí roztok v blízkosti zdrojů tepla.

5. APLIKÁTORY

Použití

K nanesení vzorků na gel - připraveny k použití.

Skladování

Skladujte na suchém místě při pokojové teplotě nebo v chladničce.

6. FILTRAČNÍ PAPIRY

Použití

Prozky tenkého filtračního papíru na jedno použití. Jsou určeny k odsátí přebytečné tekutiny z povrchu gelu před aplikací vzorků.

Skladování

Skladujte na suchém místě při pokojové teplotě nebo v chladničce.

POTŘEBNÉ REAGENTY NEOBSAŽENÉ V BALENÍ

VAROVÁNÍ : *Viz bezpečnostní listy.*

1. ODBARVOVACÍ ROZTOK

Každá lahvička zásobního odbarvovacího roztoku (SEBIA, kat. č. 4540, 10 lahviček po 100 mL) je určena k přípravě 100 litrů pracovního odbarvovacího roztoku. Je výhodné připravovat jen 5 litrů pracovního roztoku doplněním 5 mL zásobního roztoku do 5 litrů destilovanou nebo deionizovanou vodou.

Po zředění vznikne odbarvovací roztok obsahující kyselý roztok pH ≈ 2.

Použití

Roztokem se odstraní přebytečné množství barvičky a odbarvuje se pozadí agarózové plotny.

Dále k vyplachování barvicího prostoru po promývacím kroku.

K neutralizaci kyselých reakcí odbarvovacího roztoku nalijte do prázdné nádoby na odpady 15 mL 50 % (w/w) komerčně dostupného roztoku NaOH (≈ 19 M NaOH).

Skladování, stabilita, známky znehodnocení

Skladování – při pokojové teplotě nebo v chladničce. Je stabilní do doby expirace vyznačené na obalu soupravy nebo na štítku lahvičky.

Pracovní odbarvovací roztok je stabilní 1 týden při pokojové teplotě v uzavřené láhvi. Nepřidávejte azid sodný!

Nepoužívat při změně vzhledu, vzniku zákalu nebo precipitátu v roztoku.

Pro zabránění mikrobiální proliferace ve zředěném odbarvovacím roztoku, který má být skladován déle než dva týdny, přidejte 5 µL/dL roztoku ProCilin 300 nebo roztoku CLEAN PROTECT (SEBIA, kat. č. 2059, 1 lahvička, 5 mL).

Viz příbalový leták s návodem k použití roztoku CLEAN PROTECT.

Pracovní odbarvovací roztok s přísadkou roztoku ProClin nebo CLEAN PROTECT je při pokojové teplotě nebo v chladničce v uzavřené nádobě stabilní do doby expirace vyznačené na obalu sady nebo na štítku lahvičky.

2. PROMÝVACÍ ROZTOK PRO HYDRASYS

Příprava

Každá lahvička Promývací roztok pro HYDRASYS (SEBIA, kat. č. 4541, 10 lahviček po 80 mL) se ředí do 5 litrů destilovanou nebo deionizovanou vodou.

Promývací pracovní roztok po zředění obsahuje : tlumicí roztok pH 8.7 ± 0.5.

Použití

Slouží k čištění modulu HYDRASYSu určeného k barvení. Při denním používání přístroje se doporučuje promývat barvicí prostor jednou za týden.

Viz příbalový leták s návodem k použití.

Skladování, stabilita a známky zhoršení kvality

Skladujte zásobní i pracovní promývací roztok v uzavřených nádobách při pokojové teplotě nebo v chladničce. Stabilní do data expirace uvedeného na štítkách lahviček s promývacím roztokem.

Při známkách změny vzhledu pracovního promývacího roztoku, výskytu zákalu v důsledku mikrobiální kontaminace, roztok vyřadte z používání.

3. FLUIDIL

Příprava

Fluidil (SEBIA, kat. č. 4587, 1 lah. 5 mL) - připraveno k použití.

Použití

Ředění vzorků s narušenými difusními vlastnostmi přes zuby aplikátoru vzorku (například viskózní nebo zakalené vzorky, jako jsou séra s obsahem kryoglobulinu nebo kryogelu, vzorky s polymerizovaným Ig M,...) nebo s nízkou intenzitou elektroforetického záznamu.

Skladování, stabilita a známky zhoršení kvality

Při teplotě místnosti. Stabilní do doby expirace vyznačené na štítku.

Nesmí obsahovat sraženiny.

POZNÁMKY :

Zkoušky provedené pro ověření reagentů prokázaly, že pro různé roztoky a použití přizpůsobeného vybavení pro rekonstituci objemu, nemají odchylky objemu ± 5 % z konečného objemu vliv na výsledek analýzy.

Destilovaná nebo deionizovaná voda používaná k ředění roztoků musí být prostá bakteriální proliferace a plísni (použijte filtr ≤ 0,45 µm) a musí mít vodivost nižší než 3 µS/cm, což odpovídá resistivitě vyšší než 0,33 MΩ x cm.

NUTNÉ VYBAVENÍ

1. HYDRASYS Systém SEBIA : HYDRASYS 2 SCAN kat. č. 1200, HYDRASYS 2 kat. č. 1201, HYDRASYS 2 SCAN FOCUSING kat. č. 1202, HYDRASYS 2 FOCUSING kat. č. 1203, HYDRASYS kat. č. 1210 nebo kat. č. 1211 nebo HYDRASYS FOCUSING kat. č. 1212.
2. Manuální nebo automatizovaný mikropipetor, SEBIA HYDRAPLUS, kat. č. 1216 nebo SEBIA HYDRAPLUS 2, kat. č. 1217 nebo SEBIA ASSIST, kat. č. 1218 jako alternativu k vzorkovým aplikátorům.
3. Vlhká zásobní komora kat. č. 1270, dodávaná s HYDRASYS systémem.
4. Souprava kontejnerů dodávaná s HYDRASYSem.
5. Pipety – 10 µL a 200 µL.
6. Densitometr / skener pro skenování gelových ploten 82 x 51 mm nebo 82 x 102 mm : Software HYRYS SEBIA, GELSCAN SEBIA, DVSE SEBIA nebo PHORESIS pro plochy skener. Pro postupy činnosti a kalibrace viz pokyny výrobce.
7. Držák gelů SEBIA, kat. č. 1278.

ANALYZOVANÉ VZORKY

Odběr a skladování vzorků

Nejlépe výsledků se dosahuje analýzou čerstvých sér a močí – v případě nutnosti lze po dobu jednoho týdne skladovat v chladničce.

Mražené vzorky séra jsou stabilní nejméně 1 měsíc. Mražení sér s azidem sodným 0.02 g/dL, zvyšuje stabilitu stejně, jako mražení močí s HEPES 0.1 M (pH 6.75) a s azidem sodným 0.02 g/dL.

POZOR : Kyselinu boritou jako konzervans nepoužívejte.

Zmražená séra po rozpuštění zanechávají na startu rovněž stopu z denaturovaných proteinů a lipoproteinů. Skladování při 2 - 8 °C i mražení způsobuje anodický posun betalipoproteinů z beta zóny do zóny alfa-2 nebo alfa-1. Čím je použito starší sérum, tím je výraznější posun.

Příprava vzorků

1. Séra

Používejte neředěná séra.

Úprava sérových vzorků pomocí Fluidil:

Úprava sérových vzorků přípravkem Fluidil se musí provést v následujících případech:

- Sérové vzorky s narušenými difusními vlastnostmi přes zuby aplikátoru vzorku, například viskózní nebo zakalené vzorky po skladování při teplotě 2 až 8 °C nebo po zmrazení (zejména vzorky obsahem kryoglobulinu nebo kryogelu).
- Sérové vzorky s polymerizovaným Ig M.
- Sérové vzorky s elektroforetickým záznamem s nízkou intenzitou.

V takových případech přidejte 25 µL přípravku Fluidil na 75 µL séra a odstředějte na vortextu po dobu 15 sekund. Dále pokračujte podle standardního postupu.

2. Zahuštěné moče

K analýze používáme zahuštěné vzorky moče na koncentraci bílkoviny 15 - 20 g/L.

DŮLEŽITÉ : Některé moče obsahují zvýšené množství solí, které může způsobit deformaci gelu a následně poškození migračních profilů. Tyto moče je nutno dialyzovat a soli odstranit.

POZNÁMKA : *Dílúze vzorků moči do špičky aplikátorů může být narušena, pokud je moč (čistá nebo koncentrovaná) zakalená. V tomto případě se doporučuje odstranit částice působící zákal centrifugací (Postupujte podle obvyklých doporučení pro předanalytickou fázi pro analýzu vzorků moči) nebo filtrací (např. stříkačkový filtr 0.45 µm).*

Nepoužívat

- Nepoužívejte hemolyzované vzorky séra – hemolýza zvyšuje α -2 a β -frakce.
- Nepoužívejte vzorky plasmu – prouček fibrinogenu v blízkosti místa aplikace by mohl být zaměněn za monoklonální imunoglobulin a mohl by měnit procentuální složení odpovídajících zón.
- Nepoužívejte vzorky staré, nesprávně skladované moče, kde se může vyskytnout enzymatická degradace proteinů.

POZNÁMKA : *Odběrové zkumavky a centrifugační parametry pro biologické vzorky jsou popsány v dostupné dokumentaci k předanalytické fázi pro biomedicínskou analýzu (údaje poskytnuté výrobcí for zkumavek, návody a doporučení k odběru biologických vzorků...). Nejsou-li v návodu k použití pro typ zkumavek, které mají být použity, nebo k centrifugaci uvedeny žádné pokyny, postupujte podle této dokumentace a v případě rozměrů zkumavek, které mají být použity, postupujte podle dokumentu SEBIA "Charakteristiky zkumavek používaných podle přístroje". Předanalytická fáze musí být provedena podle stavu poznání, různých doporučení, mimo jiné doporučení výrobců zkumavek a platných předpisů.*

PRACOVNÍ POSTUP

HYDRASYS je multiparametrický, poloautomatizovaný systém. Automatizované kroky zahrnují postupně nanesení vzorků, elektroforetickou migraci, sušení, barvení, odbarvování, a konečné osušení gelové plotny. Manipulace se vzorky, gely, vkládání reagentů a nastavení přístroje k uvedení do chodu se provádí ručně. Teplota migračního modulu je řízena na principu peltierova efektu.

DODRŽUJTE PEČLIVĚ POKYNY UVEDENÉ V MANUÁLU HYDRASYS / HYDRASYS 2 SYSTÉMU.

I. NASTAVENÍ MIGRACE

1. Zapněte HYDRASYS.
2. Umístěte aplikátory – jeden HYDRAGEL 7 B1-B2 (7 vzorků) či HYDRAGEL 15 B1-B2 (15 vzorků) nebo dva aplikátory pro HYDRAGEL 30 B1-B2 (30 vzorků) na rovnou plochu číslis jamek nahoru (viz Obr. 1).
 - Naneste 10 µL séra nebo zahuštěné moče do každé jamky. Každý aplikátor musí být naaplikován nejdříve ve dvou minutách.
 - Vložte aplikátory do vlhké komůrky zoubky směrem nahoru (při vkládání je uchopte za ochranný plastový rámeček).
 - Nechejte vzorky difundovat do zoubků po dobu 5-ti minut po nanesení posledního vzorku. Komůrka se může vložit až na 8 hodin do chladničky a analýza může být tak po tuto dobu odložena.

Details viz v příbalovém letáku vlhké skladovací komůrky.

3. Otevřete víko migračního modulu a zvedněte nosiče elektrod a aplikátorů.

POZOR : Nikdy nezavírejte víko pokud je migrační rámeček nahoře !
4. Z menu přístroje zvolte program migrace "7 B1-B2" při použití HYDRAGEL 7 B1-B2 nebo "15/30 B1-B2" pro HYDRAGEL 15 B1-B2 nebo HYDRAGEL 30 B1-B2.
5. Vyměňte z ochranného obalu pufrované stripy – uchopením za plastické konce. Děrovanými konci plastického vyztužení je upevněte na kovové výstupky migračního rámečku nad elektrody. Plastické vyztužení stripů musí směřovat k nosiči (viz Obr. 2).
6. Vybalte agarózovou plotnu HYDRAGEL.
 - Plotnu rychle osušte tenkým filtračním papírem tak, že jej po povrchu gelu narolujete, aby přilnul k celé ploše a odsál přebytek tekutiny. Papír ihned odstraňte.

POZOR : Neponechávejte tento filtrační papír delší dobu na povrchu – hrozí dehydratace gelu!

- Naneste 120 µL destilované nebo deionizované vody při použití HYDRAGEL 7 B1-B2 nebo 200 µL pro HYDRAGEL 15 B1-B2 nebo HYDRAGEL 30 B1-B2 na dolní třetinu rámečku vyznačeného na migrační ploše.
 - Opřete gelovou plotnu (gelem nahoru) dolním okrajem o zarážku na spodní části vyznačeného rámečku na migrační ploše (viz Obr. 3).
 - Nyní gel ohněte a pokládejte do kontaktu s kapkou vody tak, aby se voda rozprostřela rovnoměrně pod celým gelem bez vzduchových bublin. Gel musí být zarovnan s vyznačeným rámečkem (viz obr. 3).
7. Sníže migrační rámeček dolů. V této pozici se pufrované stripy nedotýkají gelu. NA MIGRAČNÍ RÁMEČEK NETLAČTE DOLŮ SILOU!
 8. Aplikátory nyní vyměňte z vlhké skladovací komůrky. Manipulujte s nimi za pomoci ochranného rámečku.
 - Zkontrolujte aplikátor : Aplikace vzorku do jamky aplikátoru vede ke změnám vzhledu odpovídajícího zubu, který přechází z bílého do průhledného nebo více či méně zbarveného podle typu vzorku (sérum, krev, moč, ředidlo...). Před umístěním aplikátoru na rámeček aplikátoru zkontrolujte, že všechny zuby aplikátoru jsou namočené zkontrolováním jeho zadní strany. Bílý zub indikuje chybu při aplikaci nebo při difuzi vzorku (vadná membrána aplikátoru, neaplikovaný, zakalený nebo viskózní vzorek...). Při difuzi použijte nový aplikátor a opět aplikujte vzorek (zpracovaný nebo ne, podle postupu).
 - Odolte ochranný rámeček chránící zuby aplikátoru,
 - Aplikátor umístěte do nosiče aplikátorů do pozice č. 6 (v případě analýzy 7-mi nebo 15-ti vzorků),
 - Dva aplikátory umístěte do nosiče aplikátorů do pozice č. 3 a 9 (analýza 30-ti vzorků).
- DŮLEŽITÉ :** Čísla vyznačená na aplikátoru musí směřovat k operátorovi (viz Obr. 4).
9. Uzavřete víko migračního modulu.
 10. Stisknutím tlačítka "START" označeného zelenou šipkou (levá strana klávesnice) je procedura ihned zahájena

DŮLEŽITÉ : Přesvědčte se, zda není blokováno otvor vzduchové ventilace na pravé straně přístroje.

MIGRACE - POPIS AUTOMATIZOVANÝCH ČINNOSTÍ

- Všechny části migračního rámečku jsou sníženy – stripy s puřem i aplikátory jsou v kontaktu s povrchem gelu – probíhá aplikace vzorků do gelu.
- Nosič aplikátorů vzorků se zvedne, části s elektrodami nesoucí stripy s puřem zůstávají v kontaktu s povrchem gelu.
- Proběhne migrace při konstantních 10 W pro HYDRAGEL 7 B1-B2 nebo při konst. 20 W pro HYDRAGEL 15 B1-B2 nebo HYDRAGEL 30 B1-B2 při 20 °C řízených pomocí Peltierova efektu až do 36 Vh (po dobu asi 7-mi minut).
- Po zvednutí nosiče elektrod se elektrody odpojí.
- Teplota migrační plochy stoupá až na 65 °C na dobu 10-ti minut, po kterou se gel suší.
- Migrační plocha je ochlazena na 50 °C a slyšitelné pípnutí signalizuje odjištění víka migračního modulu. Teplota se udržuje na 50 °C až do otevření víka. Potom teplota klesá na 20 °C (v necelých 5-ti minutách). Po této době může začít nové dělení.

POZN. : Víko migračního modulu zůstává uzavřeno během všech migračních kroků.

II. PŘÍPRAVA ZPRACOVÁNÍ GELU

1. Otevřete víko.
2. Vyměte aplikátory a odstraňte je.
3. Zvedněte oba nosiče, vyměte puřované stripy uchopením za plastické konce a odstraňte je.
4. Vyměte usušený gel pro další zpracování.
5. Po každém použití otřete podélné elektrody i migrační plochu vlhkým tamponem.
6. Vyměte držák gelu z barvicí komory, otevřete jej, umístěte usušenou gelovou plotnu (gelovou stranou dopředu) do žlábků obou jeho tyček a držák uzavřete. Ujistěte se, že plotna je umístěna správně uvnitř držáku (viz obr. 5).
7. Vložte držák gelu do modulu na zpracování a barvení gelu.

DŮLEŽITÉ : Před nastartováním programu pro zpracování a barvení zkontrolujte :

- Zda kontejner pro barvení obsahuje 300 mL barvicího roztoku.
- Zda kontejner pro odbarvování obsahuje nejméně 1 litr odbarvovacího roztoku.
- Zda kontejner na odpad prázdný (není plný).

Pro připojení přívodů reagensů se řiďte pokyny zobrazovanými na obrazovce přístroje (zvolte klávesu : REAGENT LINES).

DŮLEŽITÉ : Nezapomeňte zablokovat nepoužité přívody.

8. Vyberte z menu přístroje program pro barvení "PROTEIN(E)/B1-B2" a stiskněte "START" (zelená šipka na pravé straně klávesnice).

Během barvení, odbarvování a sušení zůstává tento modul zajištěn.

Odjištění je signalizováno slyšitelným pípnutím – ventilace je udržovaná až do vynětí držáku s gelem.

III. DOKONČENÍ ZPRACOVÁNÍ GELU

1. Vyměte držák s gelem, otevřete ho a vyměte usušený gel.

POZNÁMKA : Po obarvení / odbarvení a před densitometrií / skenováním může být gel navíc jednou propláchnut, pokud je to zapotřebí pro další vyjasnění pozadí gelu a odstranění zbytkového barviva, které by se mohlo projevit jako modré skvrny. Omyjte gel pomocí programu "WASH ISOENZ/GEL".

2. Je-li třeba, očistěte zadní plastickou podpurnou část gelové plotny vlhkým měkkým hadříkem nebo buničinou.

3. Nasnímejte densitometrem / skenerem výběrem vhodného programu snímání.

POZN. : Délka jednotlivých elektroforeogramů se může lehce lišit na gelech obsahujících vzorky ve 2 nebo 3 řadách, bez následku na provedení testu.

KONTROLA KVALITY

Doporučuje se zařadit na každou sérii vzorků kontrolní sérum (Control Serum, SEBIA kat. č. 4785).

VÝSLEDKY**Hodnoty**

Denzitometrické skenování nabarvených polí elektroforeogramů (procentuálních hodnot) jednotlivých proteinových zón.

Referenční hodnoty (průměr ± 2 SD) hlavních elektroforetických zón proteinů 136 sér zdravých mužů a žen na gelech HYDRAGEL B1-B2 15/30 zpracovaných na zařazení HYDRASYS.

Kvantifikace bílkovin v UV na CAPILLARYSU dává podobné hodnoty jako nephelometrie (speciálně pro albumin). SEBIA nabízí HYDRAGEL - CAPILLARYS/NEPHELOMETRIE ekvivalentní jednotky na HYDRAGELU, po kalibraci skenovacího systému.

FRAKCE	Bez HYDRAGEL CAPILLARYS / NEPHELOMETRIE Ekvivalentních hodnot	S HYDRAGEL CAPILLARYS / NEPHELOMETRIE Ekvivalentními hodnotami
	HYRYS - GELSCAN - DVSE - PHORESIS	HYRYS - GELSCAN - DVSE - PHORESIS
Albumin	60.3 - 72.8 %	54.3 - 65.5 %
Alfa-1 globuliny	1.0 - 2.6 %	1.2 - 3.3 %
Alfa-2 globuliny	7.2 - 11.8 %	8.3 - 15.0 %
Beta-1 globuliny	5.6 - 9.1 %	6.5 - 11.5 %
Beta-2 globuliny	2.2 - 5.7 %	2.5 - 7.2 %
Gama globuliny	6.2 - 15.4 %	7.1 - 19.5 %

Doporučuje se, aby každá laboratoř stanovila své vlastní referenční hodnoty.

Interpretace¹⁻¹⁵

SEBIA doporučuje interpretaci gelu ihned po dokončení jeho zpracování. Kvalita gelu se s časem zhoršuje v závislosti na podmínkách skladování, včetně (světla, tepla...). Každá laboratoř musí definovat optimální podmínky mezi dokončením gelu a jeho interpretací na základě těchto podmínek prostředí laboratoře.

Delejší skladování gelů (na suchém místě a mimo světlo) je možné pouze pro účely archivace.

Některé vzorky séra mohou vykazovat lehké štěpení, jež závisí na koncentraci a pohyblivosti proteinů zóny alfa-2 (viz ELEKTROFOREOGRAM).

- Některá séra mají rozdílný fenotyp - (haptoglobin, GC globulin).

- Alfa-1 lipoprotein závisí na koncentraci a skladování vzorku.

U některých vzorků séra může být patrný malý, poměrně ostrý proužek odpovídající komplementu C3, který migruje do katodické zóny β-2. Viz ELEKTROFOREOGRAM.

Pro pomoc při interpretaci výsledků elektroforézy sérových a močových bílkovin, použijte dostupnou LITERATURA.

Interference a Omezení

Lipoproteiny LDL a HDL jsou komplexní složky s velmi proměnlivou přirozenou elektroforetickou mobilitou mezi beta a alfa-2 pásmem. S cílem zabránit komplikacím při integraci a interpretaci, jsou gely HYDRAGEL vyráběny s konkrétním chemickým složením, které obecně zajišťují umístění HDL v pásmu alfa-2 a LDL v pásmu beta.

Migrace je velmi citlivá na následující parametry :

- skladování vzorku,
- koncentrace lipoproteinů,
- ošetření léky (například heparinem),
- míru dehydratace gelu (skladování gelu),
- odchylky v kvalitě surovin, i malé.

Z těchto důvodů je možné pozorovat slabý anodický posun těchto lipoproteinů, které jsou více patrné při rozšíření nebo mírnému rozdělení oblastí alfa-2 a / nebo beta.

1) Procentuální obsah frakcí alfa-2 a beta **zůstává zcela nezměněn** přes mírné rozdělení v důsledku odchylek elektroforetické mobility.

2) Charakteristický tvar frakce beta-lipoproteinů (s významně zaostřeným a nepravidelným tvarem) by neměl vést k chybné interpretaci, protože se změnil pouze tento aspekt.

Viz kapitola ANALYZOVANÉ VZORKY.

Díky omezené rozlišovací schopnosti a citlivosti zónové elektroforézy je možné, že některé monoklonální komponenty nebudou detekovány touto metodou.

Problémy

Pokud testy nevycházejí při dodržení veškerých instrukcí pro přípravu, skladování a provedení testu uvedených v příbalovém letáku, volejte Technicko-Servicevní středisko vašeho dodavatele.

Bezpečnostní datové listy soupravy čidel a informace o čištění a likvidaci odpadů, označování a bezpečnostní pravidla používaná společností SEBIA, obaly pro přepravu biologických vzorků a informace o čištění přístroje jsou k dispozici na webových stránkách SEBIA : www.sebia.com.

HODNOTY

Reprodukovatelnost mezi vzorky (na gelu)

Každý ze tří různých vzorků byl podroben analýze na 28-mi drahách se soupravou HYDRAGEL β1-β2 15/30 dvou šarží. Průměr, SD and CV (n = 28) byly vypočteny pro každý vzorek, každou frakci a každý gel / šarži. Tabulka ukazuje hodnoty pro vzorek A ze dvou testovaných gelů / šarží. Obdobné výsledky byly stanoveny i pro vzorky B a C.

FRAKCE	PRŮMĚR (%)	SD	CV (%)
Albumin	50.8 ; 51.5	0.8 ; 1.3	1.6 ; 2.5
Alfa 1	2.9 ; 2.9	0.1 ; 0.1	3.2 ; 3.7
Alfa 2	8.8 ; 8.7	0.1 ; 0.2	1.2 ; 2.8
Beta 1	8.3 ; 8.2	0.3 ; 0.2	4.0 ; 2.2
Beta 2	5.1 ; 5.4	0.2 ; 0.5	4.4 ; 8.5
Gama	24.1 ; 23.3	0.4 ; 0.6	1.7 ; 2.4

Reprodukovatelnost mezi gely

Patnáct (15) různých vzorků bylo podrobeno testům v průběhu 5 následných dní, na gelech soupravy HYDRAGEL β1-β2 15/30 dvou šarží. Každý vzorek byl aplikován ve dvou drahách na každý gel (do horní a spodní řady). Denní a celkový průměr, SD and CV byly vypočteny pro každý vzorek a frakci. Výsledky byly obecně stejné pro všechny gely a obě šarže. Následující tabulka ukazuje rozsahy SD a CV vypočítané pro jednotlivé vzorky v průběhu 5-ti dnů a průměr CV ze směsného CV* pro všechny vzorky a dny a jednu šarži (n = 150).

FRAKCE	SD	CV (%)	PRŮMĚR (%)
Albumin	0.3 ; 2.1	0.5 ; 3.2	1.4
Alfa 1	0.1 ; 0.2	2.9 ; 10.2	4.8
Alfa 2	0.1 ; 0.6	1.2 ; 6.0	2.8
Beta 1	0.1 ; 0.7	1.8 ; 8.2	4.3
Beta 2	0.2 ; 0.7	6.1 ; 17.8	11.0
Gama	0.3 ; 1.1	2.9 ; 9.6	5.2

Přesnost

Sto dvanáct (112) různých vzorků (patologických a normálních sér) bylo podrobeno analýze na HYDRAGEL B1-B2 15/30 gelech a HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 gelech. Korelační parametry byly kalkulované pro jednotlivé zóny za směsnych hodnot na HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 gelech vs. porovnávací gelový systém ($y = \text{HYDRAGEL B1-B2 15/30}$) byly následující :

FRAKCE	korelační koef.	y - úsek	sklon	Rozsah % hodnot použitých vzorků (HYDRAGEL B1-B2 15/30)
Albumin	0.989	- 0.318	1.010	36.1 - 70.8
Alfa 1	0.967	0.009	0.952	1.0 - 10.1
Alfa 2	0.981	0.002	0.985	5.6 - 22.9
Beta 1 - Beta 2	0.950	0.475	1.010	8.9 - 22.3
Gama	0.988	0.134	0.947	4.4 - 28.1

Citlivost

Dva vzorky patologického séra s monoklonální bílkovinou byly následně ředěny a takto ředěné vzorky byly elektroforeticky analyzovány na HYDRAGEL B1-B2 15/30 gelech. Přepočítaná nejnižší koncentrace monoklonální bílkoviny odpovídala hodnotám 44 a 21 mg/dL.

POZN. : V závislosti na umístění monoklonální komponenty a polyklonálního pozadí v gama zóně, se může detekční limit lišit.

Linearita

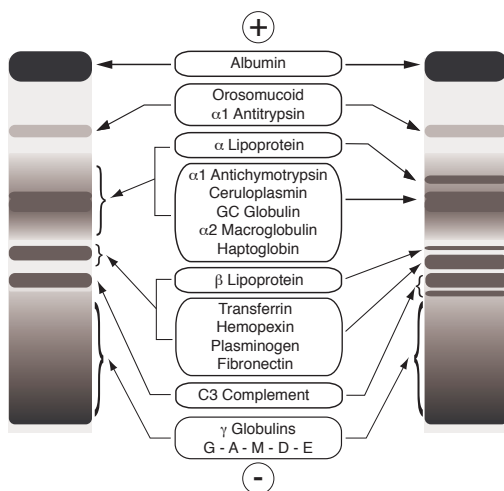
Roztoky albuminu o koncentraci 6,0 g/dL a gamaglobulinu o koncentraci 4,0 g/dL (koncentrace bílkovin stanovená spektrofotometricky při 280 nm) byly smíchány v různých koncentracích od 10 ku 10 (100 % roztoku albuminu + 0 % roztoku gamaglobulinu, 90 % + 10 % atd..., až po 0 % roztoku albuminu + 100 % roztoku gamaglobulinu) a směs byla analyzována na elektroforéze metodou HYDRAGEL 30 B1-B2.

Výsledky prokázaly, že získané procento každé frakce perfektně koreluje s teoretickým procentem každé frakce ve směsi, a že mohou být metodou HYDRAGEL 30 B1-B2 lineárně detekovány jakékoli varianty.

Bylo určeno, že test The HYDRAGEL 30 B1-B2 je lineární pro frakce albuminu a gamaglobulinu v celém studovaném rozsahu koncentrací (mezi 0,0 a 6,0 g/dL albuminu a 4,0 g/dL gamaglobulinu).

Analýza zahuštěných močí

Výsledky na HYDRAGEL B1-B2 15/30 gelech indikují velice dobrou reprodukovatelnost na a mezi gely po kvantitativní a kvalitativní analýze. Dvacet osm (28) různých vzorků (patologických i normálních močí) bylo analyzováno na HYDRAGEL B1-B2 15/30 gelech a jiném komerčně dostupném systému. Nebyly zde žádné vizuálně pozorovatelné rozdíly mezi těmito dvěma systémy. Citlivost detekce byla určena z nejvyššího ředění moče s monoklonálním gradietem na 0.024 g/dL.

ELEKTROFOREOGRAM

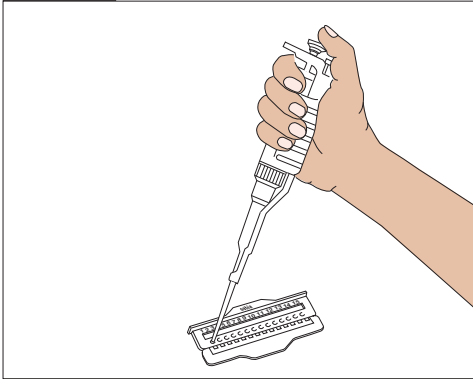
BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY**BIBLIOGRAFIE - BIBLIOGRAFIA - BIBLIOGRAFÍA - BIBLIOGRAFI - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - BIBLIOGRAFIJU - BIBLIOGRAFIJA - КАРНАҚА - БИБЛИОГРАФИЯ - 参考书目 - БИБЛИОГРАФИЮ - 参考文献 - IZMANTOTĀ LITERĀTŪRA - BIBLIOGRAFIU - KIRJANDUS - DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Brouet J.C. Les cryoglobulinémies. *La Presse Médicale*, 1983, 12, p. 2991 à 2996.
2. Brouet J.C. Orientation diagnostiquée en cas d'anomalies des immunoglobulines plasmatiques (Ig E exclues). *La Revue du Praticien*, n° 9, 21/03/91, p. 782 à 785.
3. Garnier J.P., Laurent D., Clauvel J.P., Danon F., Bousquet B., Dreux C. Dosages des protéines sériques : cause d'erreur en cas d'immunoglobuline monoclonale. *Act. Pharm. Biol. Clin.*, 1987, 4, p. 275 à 278.
4. Guinan J.E.C., Kenny D.F., Gatengy P.A. Detection and typing of paraproteins : comparison of different methods in a routine diagnostic laboratory. *Pathology*, 1989, 21, p. 35 à 41.
5. Keren D.F., "High Resolution Electrophoresis and Immunofixation Techniques and Interpretation", Butterworth-Heinemann, Woburn, MA, USA, 2nd ed., 1994, 397 pp.
6. Le Carrer D. Gammopathies monoclonales : mise au point sur leur exploration biochimique en 1991 - Première partie : Les techniques de diagnostic protéinologique, principes et limites. *L'Eurobiologiste*, 1991, Tome XXV, n° 194, p. 203 à 212.
7. Le Carrer D. Gammopathies monoclonales : mise au point sur leur exploration biochimique en 1991 - Seconde partie : Diagnostic protéinologique du myélome, de la maladie de Waldenström et des autres gammopathies monoclonales. *L'Eurobiologiste*, 1991, Tome XXV, n° 195, p. 283 à 285.
8. Le Carrer D. Intérêt du profil protéique, cible immunitaire en biologie clinique. *Revue Française des Laboratoires*, 1993.
9. Le Carrer D. Électrophorèse et Immunofixation des Protéines Sériques, Interprétations illustrées. Laboratoires SEBIA, 1994, 120 pp.
10. Le Carrer D. L'interprétation de l'électrophorèse des protéines. *L'Eurobiologiste*, 1989 - Tome XXIII, n° 182, p. 27 à 33.
11. North M.L. Détection et caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale. *Revue Française des Laboratoires*, Mars 1990, n° 203, p. 54 à 58.
12. Peltz G. Électrophorèse, les trois principes de base. *Technique et Biologie*, 1990, 1, p. 16 à 23.
13. Sicard D. Du bon usage de l'électrophorèse des protéines. *Le Concours Médical*, 05.05.90, 1990, 112, 16, p. 1513 à 1515.
14. Van Den Abelle. Électrophorèse des protéines sériques. Intérêt, limites, apport du profil protéique. *Larc Medical*, 1987, n° 7, Vol VI, p. 348 à 351.
15. Wicher J.T., Spence C.E. Serum protein electrophoresis - An out moded test. *Ann. Clin. Biochem.*, 1987, 24, p. 133 à 139.
16. Wendling A. Procédures de diagnostic ou de dépistage : justification et validité d'un test de diagnostic ou de dépistage-sensibilité-spécificité. *Impact-Internat*, Septembre 1986.

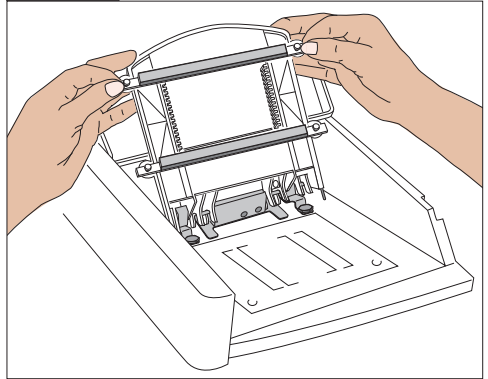
SCHÉMAS / FIGURES

ABBILDUNGEN - FIGUREN - FIGURE - FIGURAS - BILDER - EIKONES - SLIKE - PAVEIKSLAI - RYSUNKI - FIGURI -
 ÁBRÁK - ŞEKİLLER - OBRÁZKY - ФИГУРИ - FIGURER - 插图 - РИСУНКИ - 図 - CIPARI - JOONISED - SƠ ĐỒ

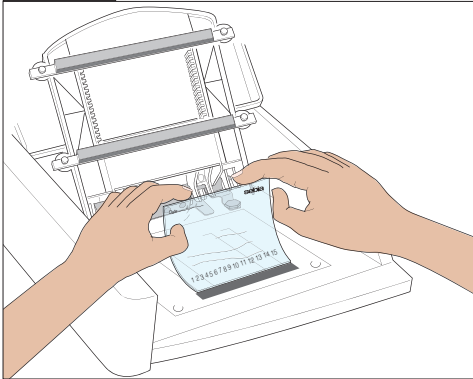
1



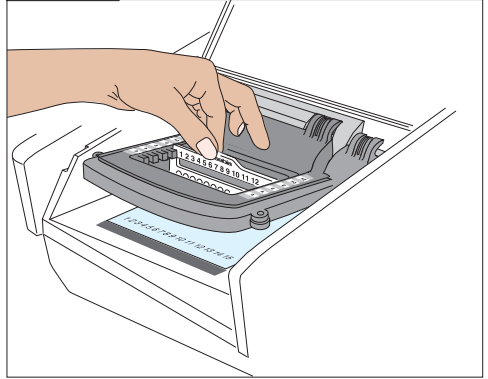
2



3



4

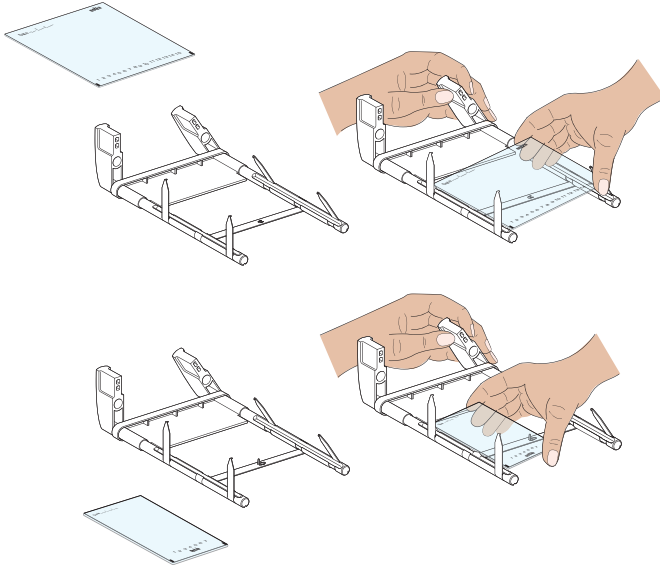


SCHÉMAS / FIGURES

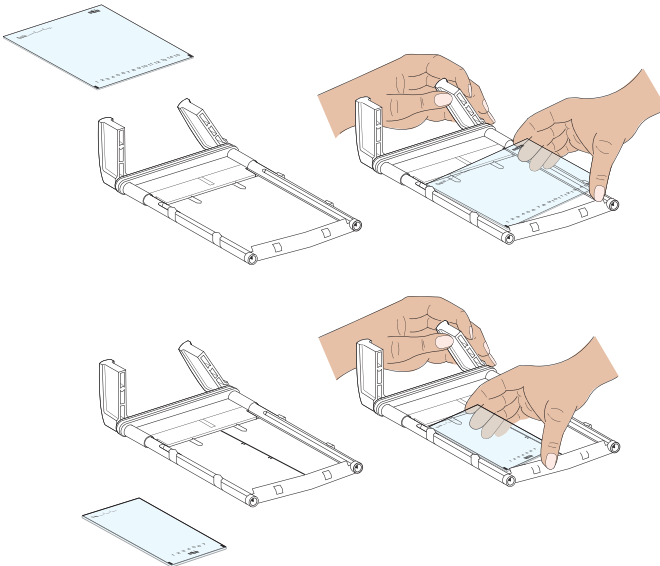
ABBILDUNGEN - FIGUREN - FIGURE - FIGURAS - BILDER - EIKONES - SLIKE - PAVEIKSLAI - RYSUNKI - FIGURI -
 ÁBRÁK - ŞEKİLLER - OBRÁZKY - ФИГУРИ - FIGURER - 插图 - РИСУНКИ - 図 - CIPARI - JOONISED - SƠ ĐỒ

5

HYDRASYS



HYDRASYS 2





sebia

Parc Technologique Léonard de Vinci
CP 8010 Lisses - 91008 EVRY Cedex - France
Tel.: +33 (0)1 69 89 80 80
E-mail: sebia@sebia.com

[Contact your local Sebia offices](#)

