

НАБІР ІФА ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛЮДСЬКОГО АДІПОНЕКТИНУ

E-09, Adiponectin ELISA

Каталог. №: E09

Кількість : 96

Виробник : Mediagnost (Німеччина)

Методика від 08-09-2015

Версія 11



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Адипонектин ELISA E09	96 Визначення
Маркування СЄ	DE/CA40/00809/18
Принцип тесту	Імуноферментний аналіз
Тривалість (інкубаційний період)	1,75 години
Антитіла	моноклональні антитіла
Буфер	Готовий до використання і 20X концентрат
Стандарт	5 одиночних стандартів: 2-100 мкг/л, нативний Адипонектин людини
Діапазон Аналізу	0.27 - 31000 мкг/л
Контроль	2 контрольні сироватки, ліофілізовані
Зразок	людська сироватка/плазма
Необхідний обсяг зразка	10 мкл
Розведення зразка	1:310
Аналітична чутливість	≤ 0.27 мкг/л
Варіабельність в аналізі і між аналізами	<10%

1 ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Даний набір призначений для використання для кількісного виміру людського Адипонектину в сироватці крові і плазмі людини.

2 ВСТУП (Див. оригінал інструкції).

3 ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Даний являє собою так званий сендвіч-аналіз з використанням двох специфічних і високо споріднених антитіл. Адипонектин в зразках зв'язується з першим антитілом, нанесеним на мікротитраційний планшет. На наступному етапі друге специфічне антитіло анти-Адипонектину зв'язується в свою чергу, з іммобілізованим Адипонектином. Друге антитіло є біотинильованим і буде застосовуватися в суміші з Стрептавідин-Пероксидаза-Ферментний кон'югат. В субстратній реакції закриття зміна кольору буде каталізована кількісно в залежності від рівня Адипонектину в зразках.

4 ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Тільки для діагностики в лабораторних умовах.

Тільки для професійного використання.

Набір Mediagnost підходить тільки для діагностики in vitro, а не для внутрішнього застосування на людях і тваринах. Дотримуйтеся суворо протоколу випробувань. Використовуйте дійсну версію інструкції, що постачається з набором. Переконайтеся, що все зрозуміло. Mediagnost не нестиме відповідальність за будь-які втрати або пошкодження за будь-якої причини, що впливає із невідповідності з інструкціями. Лист даних з безпеки матеріалів надається за запитом.

Не використовуйте явно пошкоджені або мікробно забруднені чи розлиті матеріали.

Увага: Цей набір містить матеріали людського та/або тваринного походження. Всі компоненти набору та зразки пацієнтів вважати потенційно інфекційними.

Відповідні заходи безпеки і положення належної лабораторної практики повинні бути застосовані при зберіганні, обробці та утилізації реагентів набору. Утилізацію компонентів набору проводити відповідно до місцевих нормативних документів.

Людська сироватка

Наступні компоненти містять сироватку людини: **Контрольна**

сироватка KS1 та KS2 і Стандарти А-Е.

Джерела сироваток людини були протестовані рекомендованими FDA методами і виявили відсутність реакції на поверхневий антиген до Гепатиту В (HBsAg), на антитіла до Вірусу гепатиту С (HCV), і Вірусу імунодефіциту людини 1 і 2 (ВІЛ).

Жоден з відомих методів випробувань не може запропонувати повну впевненість у відсутності інфекційних агентів, тому всі компоненти і зразки пацієнта повинні розглядатися як потенційно інфекційні.

Реагенти А-Е, АК, ЕК, VP, WP

Містять в якості консерванту суміш **5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-one і 2-метил-4-ізотіазолін-3-one** (< 0.015%)

- H317 Може викликати алергічну реакцію шкіри.
- P280 Вдягати захисні рукавички/захисний одяг/засоби захисту очей/обличчя.
- P272 Забруднений одяг не слід виносити за межі робочого місця.
- P261 Уникати вдихання пилу/диму/газу/туману/парів/аерозолів.
- P333+P313 Якщо є подразнення шкіри або висип: Звернутися за медичною допомогою / консультацією.
- P302+P352 ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води і мила.
- P501 Видалити вміст/контейнер відповідно до місцевих / регіональних/національних/міжнародних правил.

Розчин субстрату (S)

Субстрат ТМБ (S) містить 3,3', 5,5' Тетраметилбензидин (< 0.05%)

- H315 Викликає подразнення шкіри.
- H319 Викликає серйозне роздратування очей.
- H335 Може викликати подразнення дихальних шляхів.
- P261 Уникати вдихання пилу/диму/газу/туману/парів/аерозолів.
- P305+P351 ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промити очі водою протягом декількох хвилин.
- P338 Зняти контактні лінзи, якщо вони присутні і легко знімаються. Продовжити промивання.

Стоп-Розчин (SL)

Стоп-Розчин містить 0.2 М сірчаної кислоти (H₂SO₄)

- H290 Може викликати корозію металів.
- H314 Викликає серйозні опіки шкіри та подразнення очей.
- P280 Вдягати захисні рукавички/захисний одяг/засоби захисту очей/обличчя.
- P301+P330 ПРИ КОВТАННІ: прополоскати рот.
- P331 НЕ викликати блювоту.
- P305+P351 ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промити очі водою протягом декількох хвилин.
- P338 Зняти контактні лінзи, якщо вони присутні і легко знімаються. Продовжити промивання.
- P309+P310 ПРИ впливі або якщо ви відчуваєте нездужання: негайно звернутися в токсикологічний центр або до лікаря-фахівця / терапевта.

4.1 Загальні заходи швидкої допомоги:

Контакт зі шкірою: Промити уражену ділянку водою. Позбутися забрудненого одягу і взуття.

Попадання в очі: У разі попадання в очі негайно промити великою кількістю води протягом 15 хвилин.

З метою забезпечення дієвого полоскання розкрити очі.

Попадання всередину: Проковтнувши прополоскати рот ретельно з водою. Відразу звернутися до лікаря.

5 ЗРАЗКИ

5.1 Тип зразка

Сироватка та плазма

Рівні сироватки і гепаринової плазми є аналогічними. В EDTA- і цитратній плазмі рівні в зразках були знайдені приблизно на 18% нижче, через відносно велику кількість антикоагулянту.

5.2 Збір зразків

Зразки крові для підготовки сироватки повинні бути отримані відповідно до стандартизованої процедури венепункції. Гемолізованих реакцій слід уникати.

5.3 Необхідний обсяг проби: 10 мкл

5.4 Стабільність Зразка

У щільно закритих пробірках для зразків:

- Зберігання при температурі 20-25 °C: 2 дні
- Зберігання при -20 °C: мінімум 2 роки
- Циклів заморожування-відтавання: максимум 3

Зберігання зразків протягом 2 років при -20 °C не показало жодного

впливу на результати. Заморожування і відтавання зразків повинно бути зведене до мінімуму. З цикли заморожування-відтавання не показали ніякого впливу на вимірювання концентрації адипонектину.

5.5 Інтерференція

Тригліцериди, білірубін і гемоглобін в зразку не інтерферують до концентрації **5 мг/мл, 100 мкг/мл і 100 мкг/мл**. Тим не менше, використання гемолітичних, ліпемічних або жовтяничних зразків необхідно уникати.


5.6 Розведення зразка

- Розведення **1:310** з Буфером для Розведення **VP**
- Розвести, наприклад **300 мкл** Буфера для Розведення **VP** в РЕ-/PP-пробірках (застосування багатоканальної піпетки рекомендується для більшої серії), додати **10 мкл** сироватки або плазми (розведення 1:31). Додати **900 мкл** буфера для розведення **VP** в іншій РЕ-/PP-пробірці і **100 мкл** ретельно перемішаного першого розведення. Після перемішування використовують 2x100 мкл цього розведеного **1:310** зразка в аналізі.
- В якості альтернативи, якщо у Вас є необхідне технічне обладнання для однокрокового розведення, розведення **1:301** є можливим: Додати **5 мкл** до **1.5 мл** буфера дл розведення **VP**.
- Стабільність зразка після розведення зразка: не більше 1 години при температурі 20-25 °С.

6 МАТЕРІАЛИ

6.1 Матеріали, що постачаються

Реагенти, перераховані нижче, є достатніми для 96 лунок в тому числі за стандартною кривою.

MTP	Мікропланшет, готовий до використання, покритий мишачим анти-Адипонектин антитілом; лунки роздільні.	(8x12) лунок
A-E	Стандарти, ліофілізовані, (нативний Адипонектин людини), Концентрації наведені на етикетках флаконів і в сертифікаті аналізу якості в нг/мл.	5x750 мкл
KS1	Контрольна сироватка 1, ліофілізована, (сироватка людини), концентрація наведена в сертифікаті аналізу якості в нг/мл.	1x500 мкл
KS2	Контрольна сироватка 2, ліофілізована, (сироватка людини), концентрація наведена в сертифікаті аналізу якості в нг/мл.	1x500 мкл
AK	Антитіло-HRP-Кон'югат, готовий до використання, Кон'югат анти-Адипонектин-біотинильоване антитіло + стрептавідин-пероксидаза хрону.	1x12 мл
VP	Буфер для розведення, готовий до використання.	1x125 мл
WP	Промивний Буфер, 20-кратний концентрований розчин.	1x50 мл
S	Субстрат, готовий до використання, субстрат пероксидази хрону (HRP), стабілізований Тетраметилбензидином.	1x12 мл
SL	Стоп-розчин, готовий до використання, 0.2 M сірчана кислота.	1x12 мл
-	Ущільнювальна стрічка, для покриття поверхні лунок планшета.	2x
	Інструкції з використання	1x
--	Сертифікат якості	1x

6.2 Необхідні матеріали, які не надаються

- Дистильована або деіонізована вода для розведення Промивного Буфера **WP**, 950 мл
- Точні піпетки і багатоканальні піпетки зі змінними пластиковими наконечниками
- Вортексний міксер
- Мікропланшетний Шейкер (350 об/хвилину)
- Мікропланшетний Вошер (рекомендується)
- Мікропланшетний Рідер ("ІФА-рідер") з фільтром на 450 і ≥ 590 нм

7 ТЕХНІЧНІ ПРИМІТКИ

Умови зберігання

Зберігати набір при 2-8 °С до закінчення його терміну придатності. Ліофілізовані реагенти слід зберігати при -20 °С після відновлення. Уникайте повторного відтавання і заморожування.

Термін зберігання

Термін зберігання компонентів після першого відкриття становить **4 тижні**; зберігати невикористані смужки і мікропланшет герметично закритими разом з осушувачем при 2-8 °С в пакеті з замком, використовувати тримачі. Відновлені компоненти стандартів **A-E** та Контрольних Сироваток **KS1** і **KS2** необхідно зберігати при -20 °С (максимум 4 тижні). Для подальшого використання, розморозити швидко, але обережно (щоб уникнути підвищення температури вище

кімнатної температури і уникнути надмірного змішування). До 3 циклів заморожування-відтавання не впливають на аналіз. Розведення 1:20 Промивного Буфера **WP** залишається стабільним 4 тижні при 2-8 °С.

Підготовка реагентів

Довести всі реагенти до кімнатної температури 20-25 °С перед використанням. Можливі осадки у буферах повинні бути розчинені перед використанням шляхом змішування і/або підігріву. Реагенти з різних серій не можуть бути змішані.

Відновлення

Стандарти **A-E** і Контрольні сироватки **KS1** і **KS2** відновлюють з Буфером для Розведення **VP**. Рекомендується тримати відновлені реагенти при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, а потім змішати їх ретельно, але обережно (без утворення піни) з вихровим змішувачем.

Розведення

Після відновлення розбавити Контролі **KS1** і **KS2** з Буфером для Розведення **VP** в тому ж співвідношенні (1:310) як і зразки. Необхідний обсяг Промивного Буфера **WP** отримують шляхом розведення 1:20 наданого 20x концентрату з дистильованою водою.

Процедура аналізу

При виконанні аналізу, Бланк, Стандарти **A-E**, Контролі **KS1** і **KS2** та зразки піпетувати якомога швидше (наприклад, < 15 хвилин). Щоб уникнути спотворень через відмінності в часі інкубації Кон'югат Антитіл **AK** і Ферментний Кон'югат **EK**, а також **Розчин Субстрату S** слід додати до пластини в тому порядку і з тим же інтервалом в часі, що і зразки. **Стоп-розчин SL** слід додати до пластини в тому ж порядку, що і Розчин Субстрату **S**.

Всі визначення проводити в дублях. Для отримання оптимальних результатів дотримуватись точного піпетування та положень інструкції.

Інкубація

Інкубація при кімнатній температурі означає: інкубація при 20-25 °С. Розчин субстрату **S**, стабілізований ТМБ, є світлочутливим - зберігати і проводити інкубацію в темряві.

Струшування

Стадію інкубації слід проводити при середній частоті обертання шейкера мікротитрувального планшета. Ми рекомендуємо 350 оборотів в хвилину. Залежно від конструкції шейкера, частота струшування повинна бути скоригована. Недостатнє струшування може призвести до недостатнього змішування розчинів і тим самим до низької оптичної щільності, високих варіацій і/або помилкових значень; надмірне струшування може призвести до високих оптичних щільностей і/або помилкових значень.

Промивання

Правильне промивання має **принципове значення** для безпечного, надійного та точного виконання тесту. Неповне промивання є частою помилкою і негативно позначається на тестовому результаті. Можливими наслідками можуть бути не контрольовані неспецифічні варіації вимірюваних оптичних густин, що може призвести до помилкових результатів розрахунків досліджених зразків. Ефекти, такі як високі фонові значення або високі варіації, можуть вказувати на проблеми промивання.

Всі промивання повинні виконуватися за допомогою доданого Промивального Буфера **WP**, розведеного до концентрації використання. Обсяг на цикл промивки та на лунку має бути 300 мкл, щонайменше.

При використанні **автоматичного мікропланшетного вошера**, відповідні інструкції щодо використання мають бути дотримані. Повинні бути виконані налаштування пристроїв, наприклад, геометрія пластини і наданих параметрів промивання. Колектор для дозування та аспірації не повинен дряпати поверхню всередині лунки. Розрахунки повинні бути зроблені таким чином, щоб обсяг залишкової рідини кожного кроку аспірації зводився до мінімуму. Після останнього кроку аспірації кожного циклу промивки, це можна контролювати, і можливий залишок рідини може бути видалений, перевертанням планшета і неодноразовим постукуванням ним по сухому фільтрувальному паперу.

Ручне промивання є адекватним альтернативним варіантом. Промивний Буфер може бути розподілений через мультикоровий пристрій, за допомогою багатоканальної піпетки, або пульверизатор. Рідина може бути вилучена шляхом динамічного витрушування з планшета в раковину. Якщо використовуються аспіраційні пристрої, переконайтеся, що поверхня всередині лунки не дряпається. Після кожного кроку промивання можливий залишок рідини може бути видалений перевертанням планшета і неодноразовим постукуванням ним по сухому фільтрувальному паперу.

8 ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Підготовка реагентів		Відновлення:	Розведення
A-E	Стандарти	в 750 мкл Буфера для Розведення VP	-
KS1 та KS2	Контрольна сироватка	в 500 мкл Буфера для Розведення VP	1:310 з VP
WP	Промивний буфер	-	1:20 з Дист. водою

Розведення зразка: з Буфером для Розведення VP 1:310
Перед початком аналізу довести всі реагенти до кімнатної температури (20-25 °C).

Процедура аналізу з подвійним визначенням		
Піпетувати	Реагенти	Позиція
100 мкл	Буфер для Розведення VP (Бланк)	A1/A2
100 мкл	Стандарт A (2 нг/мл)	B1/B2
100 мкл	Стандарт B (10 нг/мл)	C1/C2
100 мкл	Стандарт C (30 нг/мл)	D1/D2
100 мкл	Стандарт D (70 нг/мл)	E1/E2
100 мкл	Стандарт E (100 нг/мл)	F1/F2
100 мкл	Контрольна Сироватка KS1 (1:310 розведення)	G1/G2
100 мкл	Контрольна Сироватка KS2 (1:310 розведення)	H1/H2
100 мкл	Зразок (1:310 розведення)	в решті лунок, відповідно до ваших вимог
Накрити лунки плівкою.		
Інкубація зразка: 1 година при 20-25 °C, 350 об./хв.		
3 x 300 мкл	Видалити вміст лунок і промити 3x з 300 мкл Промивного Буфера WP на кожну лунку	В кожній лунці
100 мкл	Антитіло-POD-Кон'югат АК	В кожній лунці
Накрити лунки плівкою.		
Інкубація: 30 хвилин при 20-25 °C, 350 об./хв.		
3 x 300 мкл	Видалити вміст лунок і промити 3x з 300 мкл Промивного Буфера WP на кожну лунку	В кожній лунці
100 мкл	Розчин Субстрату S	В кожній лунці
Інкубація: 15 хвилин в темноті при 20-25 °C		
100 мкл	Стоп Розчин SL	В кожній лунці
Виміряти ОЩ протягом 30 хвилин при 450 нм з референтною довжиною хвилі ≥ 590 нм.		

9 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Належна лабораторна практика (GLP) вимагає, щоб контролю були включені в кожний аналіз. Статистично значуща кількість контролів повинна бути проаналізована, щоб встановити середні значення і прийнятні діапазони для забезпечення належної роботи. Результати випробувань дійсні тільки якщо випробування було проведено відповідно до інструкцій. Крім того, користувач повинен строго дотримуватися правил GLP (Good Laboratory Practice) та інших застосовуваних федеральних, державних та місцевих стандартів/законів. Всі стандарти і контролі в наборах повинні бути в межах прийнятних діапазонів, як зазначено в Сертифікаті QC. Якщо критерії не виконуються, аналіз не є дійсним і повинен бути повторений. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки в якості додаткових контролів.

9.1 Критерії якості

Для оцінки аналізу потрібно, щоб значення абсорбції бланка були нижче 0,25, і абсорбція стандарту E повинна бути вище 1,00. Зразки, які дають більш високе значення абсорбції, ніж Стандарт E, повинні бути повторно протестовані з більш високим розведенням.

10 ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

10.1 Побудова стандартної кривої

Стандарт	A	B	C	D	E
нг/мл	2	10	30	70	100

- 1) Розрахувати середні значення абсорбції для бланка з дубльованого визначення (лунка A1/A2).
- 2) Відняти середню абсорбцію бланка від середніх абсорбцій всіх інших значень.
- 3) Відкласти значення концентрацій стандартів по осі x навпроти середніх значень оптичної щільності стандартів на осі ординат.
- 4) Рекомендація: Розрахунок стандартної кривої має бути зроблено за допомогою комп'ютерної програми, тому що крива в цілому (без відповідного перетворення) не ідеально описує лінійну регресію. Як правило, підходять наступні методи для оцінки: **Вищого класу поліноміальний, 4-параметричний**

логістичний (4-PL) або нелінійної регресії.

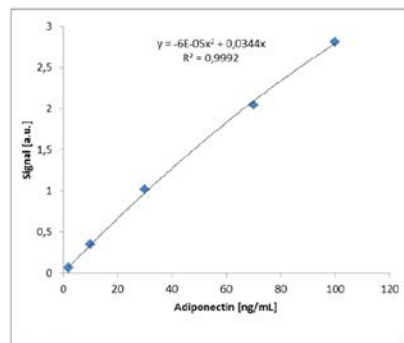
- 5) Концентрація Адипонектину в нг/мл зразків та контролів може бути обчислена шляхом множення на відповідний коефіцієнт розведення.

10.2 Приклад типової стандартної кривої

Наступні дані тільки для демонстрації і не можуть бути використані замість генерації даних під час аналізу.

	Blank	A	B	C	D	E
ng/mL	0.0	2	10	30	70	100
OD (450-620 nm)	0.008	0.071	0.357	1.022	2.053	2.817

Наведена для зразка стандартна крива на Малюнок 3 не може бути використана для розрахунку ваших результатів випробувань. Ви повинні встановити стандартну криву для кожного тесту!



Малюнок 3 Приклад стандартної кривої

10.3 Приклад розрахунку концентрацій Адипонектину

Розведення зразка 1:310

Виміряна ОЩ бланка 0.408
Виміряна ОЩ вашого зразка 0.008

Ваша програма вимірювання буде розрахувати концентрацію Адипонектину розведеного зразка автоматично, використовуючи різницю зразка і бланка для розрахунку. Вам потрібно лише визначити найбільш підходящу криву (тут: поліном другого ступеня).

У цьому прикладі таке рівняння вирішується за допомогою програми для розрахунку концентрації ІФР-I в зразку:

$$0.400 = -6 \times 10^{-5} x^2 + 0.0344x$$

$$11.89 = x$$

Якщо коефіцієнт розведення (1:310) враховується, концентрація Адипонектину в нерозведеному зразку буде наступною

$$11.89 \times 310 = 3685.9 \text{ нг/мл} = 3.69 \text{ мкг/мл}$$

Приклад стандартної кривої на рис.1 не може бути використаний для розрахунку ваших результатів випробувань. Ви повинні встановити стандартну криву для кожного тесту, який ви проводили!

10.4 Інтерпретація результатів

Результати випробувань не повинні бути єдиною основою для прийняття терапевтичних рішень. Результати слід інтерпретувати в поєднанні з анамнезом, подальшими клінічними спостереженнями і результатами інших діагностичних досліджень. Крім того, рекомендується встановити референтне значення і значення cut-off, відповідні встановленій групі пацієнтів, для кожної з лабораторій.

10.5 Обмеження процедури

Даний аналіз заснований на моноклональних антитілах. Як правило, цей метод може бути чутливим до гетерофільних антитіл або ревматичного фактора в зразку. Їх вплив зменшується дизайном аналізу, але не може бути виключений повністю.

11 ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Очікувані значення сироваткового Адипонектину, що були визначені за допомогою ELISA Mediagnost E09 у здорових донорів і проаналізовані професором Dr. J. Kratzsch, Відділ Лабораторної Медицини, Університетський Госпіталь Лейпциг, наведені нижче (табл. 1).

Ці дані показують значну кореляцію між значеннями Адипонектину в сироватці і віком, а також статтю пробандів, в свою чергу, кореляція між відповідним BMI здається менш значною. В зразках неонатальної пуповинної крові були знайдені дуже високі значення. Кілька різних статистичних аналізів були проведені для адаптації до певних індивідуальних вимог. Найбільш підходящі дані можуть бути обрані, відповідно, для інтерпретації власних вимірів.

(Таблиці 1a, 1b, 1c та 1d дивись в оригіналі інструкції англійською мовою).

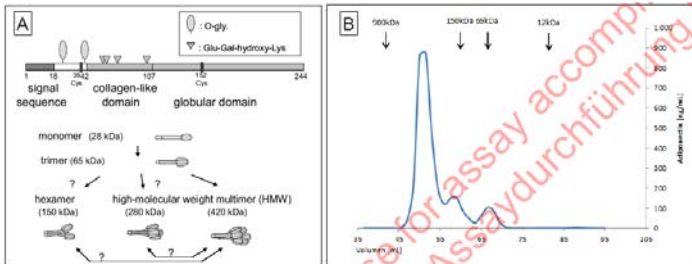
12 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

12.1 Чутливість

Аналітичну чутливість ELISA E09 вимірювали варіабельністю сигналу нульового стандарту. На основі дворазового стандартного відхилення бланка середня аналітична чутливість становить < 0.27 нг/мл (діапазон 0.094 до 0.59 нг/мл).

12.2 Специфічність

Адипонектин існує в різних олігомерних формах: висока, середня і низька молекулярна вага. Різні кількості мономера Адипонектину агрегують специфічно з утворенням комплексу. На малюнку 2а схематично показані п'ять різних форм людського Адипонектину. Паралельно показані результати хроматографії захоплення-виключення сироватки крові людини, яка вимірюється з даним набором.



12.3 Точність

Варіабельність в аналізі та Достовірність

Варіабельність в аналізі та достовірність ілюстративно показані на двох зразках. Концентрацію Адипонектину цих зразків неодноразово вимірювали в одному аналізі.

Таблиця 2 Варіабельність всередині аналізу

	Determinations [n]	Mean value [µg/L]	Standard deviation [µg/L]	VC [%]	Target Value [µg/L]
Sample 1	8	7.108	0.22	3.14	6
Sample 2	8	107.96	3.97	3.67	100

В обох зразках мінливість становить менше 5%, а відхилення від заданого значення < 20%.

Варіабельність між аналізами

Зразки сироватки були повторно виміряні в незалежних аналізах з різних лотів. В середньому коефіцієнт варіації склав 7.5% (SD 1.6). Результати 5 зразків наведені в таблиці 3.

Таблиця 3 Варіабельність між аналізами

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
Mean [µg/mL]	4.72	5.25	8.36	5.45	22.29
CV [%]	8.16	8.14	6.93	8.05	7.30
n	99	68	62	174	62

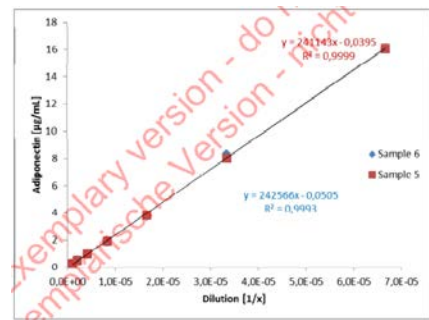
12.4 Лінійність

Лінійність розведення зразка була перевірена шляхом послідовного розведення (1:100-1:4000) зразків сироватки крові людини і перерахунку вмісту Адипонектину в порівнянні з середньою концентрацією Адипонектину всіх розведень (таблиця 4), ні один розбавлений зразок не показав відхилення > 30%.

Таблиця 4 Лінійність

µg/mL	Mean	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000
Sample 1	5.76	6.53	6.331	5.764	5.49	6.067	6.114	4.056
Sample 2	11.53	10.93	12.107	11.395	11.454	11.567	12.884	10.362
Sample 3	12.07	13.57	12.853	12.03	11.974	11.338	11.548	11.169
Sample 4	4.89	4.659	4.886	4.384	4.425	5.851	5.13	n/a

Додатково, розведення 1:1500 до 1:96000 були оцінені з двома зразками. На малюнку 3 результати показані і демонструють, що в випробуваних зразках ефекту розведення не було виявлено на вимірних концентраціях Адипонектину. Відхилення цільової концентрації кожного розведення було у всіх розведеннях менше 30%.



Малюнок 3 Лінійність

12.5 Відновлення

Достовірність та простежуваність даного набору оцінювали шляхом відновлення рекомбінантного Адипонектину в сироватці крові людини. Відновлення рекомбінантного Адипонектину становить в середньому 110%.

Таблиця 5 Відновлення рекомбінантного Адипонектину в сироватці людини

R&D recombinant Adiponectin lot 1022911 ng/mL	VP ng/mL	Serum ng/mL	Recovery %
0	0	0.00778	---
75	87.92	95.71	109
37.5	51.84	59.98	116
18.75	26.55	26.7	101
9.375	13.35	15.15	113

12.6 Інтерференція

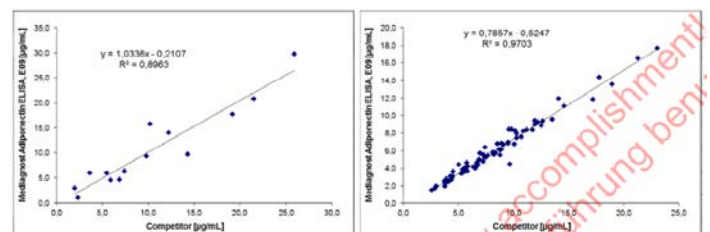
Інтерференція білірубину і тригліцеридів була перевірена шляхом додавання різних кількостей цих речовин в сироватку крові людини, що містить Адипонектин. Для порівняння таку ж кількість буфера без якої-небудь речовини також було додано в сироватку крові. Таблиця 6 показує, що ні білірубін, ні тригліцериди не мають жодного впливу на вимірювання Адипонектину в сироватці крові людини.

Таблиця 6 Інтерференція

Triglyceride 100 mg/mL	Bilirubin 100 µg/mL	Hemoglobin 1 mg/mL	Hemoglobin 5 mg/mL
94	96	90	109
90	93	97	--
95	94	93	--

13 ПОРІВНЯННЯ АНАЛІЗІВ

Mediagnost Адипонектин, E09 порівнювали з двома різними, комерційно доступними тест-системами. В аналізі лінійної регресії обидва тести показав хороший коефіцієнт детермінації ($R^2=0.896$ і $R^2=0.97$). Таким чином, порівняння результатів між Mediagnost E09 і інших тест-систем є можливою. Залежно від відповідної системи абсолютне відхилення результатів вимірювань відрізняється, але через чудову кореляцію результатів їх можна порівняти після застосування коефіцієнта. Результати обох досліджень показані на малюнку 4.



Малюнок 4 Порівняння Mediagnost E09 з комерційно доступними тест-системами (зліва) радіоіммуноаналізу (n = 14) і (праворуч) ІФА (n = 84)

ІНСТРУКЦІЯ ПО ЗАСТОСУВАННЮ ДЛЯ НАУКОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ

14 НАУКОВЕ ЗАСТОСУВАННЯ

У доповненні до зразків сироватки і плазми Адипонектин може бути визначений в інших рідинах організму людини і в культурі клітин супернатантів клітинних ліній людини в дослідницьких цілях.

14.1 Зразки, придатні для наукового застосування

Сироватка, плазма, слина, сеча, грудне молоко і супернатант клітинної культури клітинних ліній людини.

Рекомендоване розведення зразків сироватки і плазми в буфері для розведення VP: (1:310).

В інших зразках, рівні Адипонектину можуть варіювати значно, оптимальне розведення повинно бути виявлено замовником.

Таблиця 7

Matrix Dilution	Urine	Saliva	Breast Milk	Cell Culture Medium 10% FCS	Cell Culture Medium
1:2	80	87	89	83	95
1:5	95	80	92	92	97
1:10	92	87	-	101	85
1:20	94	99	-	83	91

14.2 Перехресна реактивність видів

Сироватка зі згаданих видів була розведена і використана в якості зразка в даній системі аналізу. Не було виявлено перехресної реактивності в сироватці з наступними видами:

Кінь, Корова, Курка, Кролик, Собака, Морська Свинка, Вівця, Миша, Коза, Осел, Щур, Кіт

Чи є ця явна не-реактивність видів специфічною, слід оцінювати індивідуально по кожному клієнту.



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com