

НАБІР ІФА ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИМІРУ ЛЮДСЬКОГО ЦИСТАТИНУ С

RD191009100, Human Cystatin C ELISA

Каталог. № : RD191009100 Версія 004.A
Кількість : 96
Виробник : BioVendor (Німеччина-Чехія)



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

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір ІФА RD191009100 людський Цистатин С являє собою імуноферментний аналіз типу «сандвіч» для кількісного виміру людського Цистатину С.

» Особливості

- Європейський союз: для використання в *in vitro* діагностиці Решта світу: тільки для дослідницьких використання!
- Загальний час аналізу менше 2 годин
- За допомогою набору можна визначити Цистатин С в сироватці, плазмі (ЕДТА, цитрат, гепарин), спинномозковій рідині та сечі
- Формат аналізу складається з 96 лунок
- Контролі якості на основі людської сироватки або нативного білка сечі людини. Жодна тваринна сироватка не використовується
- Стандарт людської сироватки на основі нативного білка
- Компоненти набору, що постачаються, готові до використання або концентровані

2. ЗБЕРІГАННЯ, ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

Зберігайте весь набір при 2-8 °С. У цих умовах набір стабільний до закінчення терміну придатності (див. етикетку на коробці).

Дані щодо стабільності відкритих реагентів наведені в Розділі 9.

3. ВСТУП (Див. оригінал інструкції англ. мовою).

Галузі досліджень:

Ураження нирок

4. ПРИНЦИП ТЕСТУ

В даному аналізі стандарти, контролі якості та зразки інкубують в мікропланшетних лунках, попередньо покритих поліклональними антитілами анти-людського Цистатину С. Після 30 хвилин інкубації і промивання додаються поліклональні антитіла проти людського Цистатину С, кон'юговані з пероксидазою хрому, і проводиться інкубація з захопленням Цистатином С протягом 30 хвилин. Після ще однієї промивки кон'югат HRP, який залишився, реагує з розчином субстрату. Реакцію зупиняють додаванням кислого розчину і вимірюється оптична щільність отриманого продукту жовтого кольору. Оптична щільність пропорційна концентрації Цистатину С. Стандартна крива будується відкладанням величин оптичної щільності проти концентрацій стандартів, і концентрації невідомих зразків визначають з використанням цієї стандартної кривої.

5. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Тільки для професійного використання
- Використовуйте рукавички та лабораторні халати при роботі з імунодіагностичними матеріалами
- Не пити, не їсти і не курити в тих зонах, де знаходяться імунодіагностичні матеріали
- Цей набір містить компоненти людського походження. Ці матеріали були знайдені такими, що не мають реакції на HBsAg, антитіла ВГС і ВІЛ 1/2 антигену. Тим не менше, ці матеріали повинні розглядатися як потенційно інфіковані, тому, що жоден тест не може гарантувати повну відсутність інфекційних агентів
- Цей набір містить компоненти тваринного походження. Ці матеріали повинні бути оброблені як потенційно інфіковані
- Уникайте контакту з кислим стоп-розчином і розчином субстрату, що містять перекис водню і Тетраметилбензидин (ТМБ). Одягайте рукавички і захист для очей та захисний одяг при роботі з цими реагентами. Стоп і/або Розчин субстрату

можуть викликати шкірні подразнення/подразнення очей. У разі контакту зі стоп-розчином і розчином субстрату промити ретельно шкіру/очі водою та звернутись за медичною допомогою, коли це необхідно

- Матеріали не повинні піпетуватись ротом

6. ТЕХНІЧНІ ПОРАДИ

- Реагенти з різних серій не слід змішувати
- Використовувати ретельно вимитий скляний посуд
- Використовувати деіонізовану (дистильовану) воду, що зберігається в чистих ємностях
- Уникати забруднення серед зразків і реагентів. Для цього одноразові наконечники повинні використовуватися для кожного зразка і реагенту
- Розчин субстрату повинен залишатися безбарвним, поки він не доданий в планшет. Тримайте розчин субстрату в захищеному від світла місці
- Стоп-розчин повинен залишатися безбарвним, поки він не доданий в планшет. Колір, розвинений в лунках, зміниться з синього на жовтий відразу після додавання стоп розчину. Лунки зеленого кольору вказують на те, що Стоп-розчин не перемішався з розчином субстрату належним чином
- Утилізацію витратних матеріалів і невикористаного матеріалу проводити відповідно до чинних державних нормативних вимог

7. РЕАГЕНТИ, ЩО ПОСТАЧАЮТЬСЯ

Склад набору	Стан	Кількість
Мікротитраційні смужки, вкриті Антитілами	готові до використання	96 лунок
Концентрат Розчину Кон'югату (50x)	концентрований	0,26 мл
Розчинник Кон'югату	готовий до використання	13 мл
Набір Стандартів	концентровані	6 x 0,1 мл
Контроль якості ВИСОКИЙ	концентрований	0,1 мл
Контроль якості НИЗЬКИЙ	концентрований	0,1 мл
Буфер для розведення конц. (10x)	концентрований	10 мл
Розчин для промивання Конц. (10x)	концентрований	100 мл
Розчин субстрату	готовий до використання	13 мл
Стоп розчин	готовий до використання	13 мл
Лист технічних даних + сертифікат аналізу	----	1 шт.

8. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ З НАБОРОМ

- Деіонізована (дистильована) вода
- Пробірки для розведення зразків
- Скляний посуд (мірний циліндр і пляшка) для Розчину для промивання (Буферу для розведення)
- Точні піпетки на 10-1000 мкл з одноразовими наконечниками
- Багатоканальна піпетка на 100 мкл з одноразовими наконечниками
- Абсорбуючий матеріал (наприклад, паперові рушники) для промокання планшету після миття
- Вортекс
- Орбітальний мікропланшетний шейкер зі швидкістю 300 об/хвилину
- Мікропланшетний вошер (опційно). [Ручна промивка можлива, але не є бажаною]
- Мікропланшетний рідер з фільтром 450±10 нм, переважно з контрольною довжиною хвилі 630 нм (як альтернатива ще один з інтервалу 550-650 нм)
- Програмне забезпечення для аналізу даних (опційно)

9. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

- » Всі реагенти повинні бути доведені до кімнатної температури перед використанням
- » Завжди готуйте тільки відповідну кількість реагентів для тесту
- » Не використовуйте компоненти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці

- Аналітичні реагенти, що постачаються, і готові до застосування:

Мікротитрувальні смужки з попереднім покриттям

Стабільність і зберігання:

Поверніть невикористані смужки в алюмінієвий пакет з осушувачем і запечатайте ретельно. Смужки залишаються стабільними 3 місяці при зберіганні при температурі 2-8 °С в захищеному від вологи місці.

Розчинник Кон'югату

Розчин субстрату

Стоп Розчин

Стабільність і зберігання:

Відкриті реагенти стабільні 3 місяці при зберіганні при температурі 2-8 °С.

• **Аналітичні реагенти, що поставляються концентрованими:**

Буфер для розведення Конц. (10x)

Розведіть 10 мл Концентрату Буфера для Розведення (10x) в 90 мл дистильованої води для приготування 1x робочого розчину, наприклад, 10 мл Концентрату Буфера для Розведення (10x) + 90 мл дистильованої води для використання всіх 96 лунок.

Рекомендується розводити тільки необхідну кількість Концентрату Буфера для Розведення (10x) для поточного аналізу.

Зберігання і стабільність:

Розведений Буфер для Розведення стабільний у протягом 1 тижня при зберіганні при 2-8 °С. Відкритий Концентрат Буфера для Розведення (10x) стабільний 3 місяці при 2-8 °С.

Набір Стандартів

Розведіть кожен концентрований стандарт в 400 разів Буфером для Розведення безпосередньо перед аналізом, в два етапи, у такий спосіб:

Розведення А (10x):

Внесіть 10 мкл стандарту в 90 мкл Буфера для Розведення.

Ретельно перемішайте, уникаючи піноутворення. Рекомендується використовувати вортекс.

Розведення В (40x):

Внесіть 10 мкл Розведення А в 390 мкл Буфера для Розведення для приготування фінального розведення (400x). **Ретельно перемішайте** (уникаючи піноутворення). Рекомендується використовувати вортекс.

Зберігання і стабільність:

Відкриті Стандарти стабільні протягом 3 місяців при зберіганні при 2-8 °С. **Не зберігайте розведені стандарти.**

Контролі якості ВИСОКИЙ, НИЗЬКИЙ

Зверніться до сертифіката аналізу за даними щодо концентрації Контролю якості!!!

Розвести кожен Контроль Якості (QC) 400x з Буфером для Розведення безпосередньо перед аналізом в два етапи, у такий спосіб:

Розведення А (10x):

Внесіть 10 мкл QC в 90 мкл Буфера для Розведення. **Ретельно перемішайте**, уникаючи піноутворення. Рекомендується використовувати вортекс.

Розведення В (40x):

Внесіть 10 мкл Розведення А в 390 мкл Буфера для Розведення для приготування фінального розведення (400x). **Ретельно перемішайте** (уникаючи піноутворення). Рекомендується використовувати вортекс.

Зберігання і стабільність:

Відкриті QC стабільні протягом 3 місяців при зберіганні при 2-8 °С. **Не зберігайте розведені QC.**

Примітка:

Концентрація речовини в Контролях Якості не повинна ніяким чином асоціюватися з нормальною та/або патологічною концентраціями в сироватці або іншій рідині організму. Контролі Якості використовуються тільки для контролю, що комплект працює відповідно до PDS і CoA і що ІФА проводили належним чином.

Рекомендується використовувати два або три контролі негативних зразків пацієнтів (на додачу до контролів, які поставляються). Вони можуть служити для диференціювання між позитивним і негативними зразками (Див. мал. 5 і 6).

Розчин кон'югату (концентрат 50x):

Підготуйте робочий Розчин Кон'югату додаванням 1 частини концентрату кон'югату (50x) до 49 частин Розчинника Кон'югату. Наприклад: 0.25 мл Концентрату Розчину Кон'югата (50x) + 12.25 мл Розчинника Кон'югату - на 96 лунок. Приготуйте тільки необхідну кількість розчину. **Ретельно і акуратно перемішайте**, уникаючи піноутворення.

Стабільність та зберігання: Відкритий Концентрат Кон'югату стабільний 3 місяці при зберіганні при 2-8 °С. **Не зберігайте розведений Розчин Кон'югату.**

Концентрат Буфера для Промивок (10x):

Розведіть Концентрат Буфера для Промивок (10x) в 10 разів у 900 мл дистильованої води для приготування робочого розчину 1x, наприклад, 100 мл Концентрату Буфера для Промивок (10x) + 900 мл дистильованої води для використання всіх 96 лунок.

Зберігання і стабільність: Розведений Буфер для Промивок стабільний протягом 1 місяця при зберіганні при 2-8 °С. Відкритий Концентрат Буфера для Промивок (10x) стабільний 3 місяці при

зберіганні при 2-8 °С.

10. ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Набір призначений для визначення людського Цистатину С в сироватці, плазмі (EDTA, цитрат, гепарин), СМР та сечі.

Зразки повинні бути проаналізовані відразу після збору або мають зберігатися при температурі -20 °С. Ретельно перемішати розморожені зразки безпосередньо перед аналізом і уникати повторних циклів заморожування/відтавання, які можуть викликати помилкові результати. Уникайте використання гемолізованих або ліпемічних зразків.

Розвести зразки (сироватка, плазма) 400x Буфером для Розведення безпосередньо перед виконанням аналізу в два етапи наступним чином:

Розведення А (10x):

Додати 10 мкл зразка в 90 мкл Буфера для Розведення і **добре перемішати** (без піноутворення). Vortex рекомендується.

Розведення В (40x):

Додати 10 мкл Розведення А в 390 мкл Буфера для Розведення для приготування остаточного розведення (400x). **Добре перемішати** (без піноутворення). Vortex рекомендується.

Розвести зразки (СМР) 1600x Буфером для Розведення безпосередньо перед виконанням аналізу в два етапи наступним чином:

Розведення А (40x):

Додати 10 мкл зразка в 390 мкл Буфера для Розведення і **добре перемішати** (без піноутворення). Vortex рекомендується.

Розведення В (40x):

Додати 10 мкл Розведення А в 390 мкл Буфера для Розведення для приготування остаточного розведення (1600x). **Добре перемішати** (без піноутворення). Vortex рекомендується.

Стабільність і зберігання:

Зразки слід зберігати при -20 °С, або, переважно, при температурі -70 °С протягом тривалого зберігання. Уникати повторних циклів заморожування/відтавання

Не зберігайте розбавлені зразки.

Щодо розведення зразків сечі див. розділ 15.

Див. Розділ 13 щодо даних про стабільність зразків сироватки і плазми при зберіганні при температурі 2-8 °С, ефект заморожування/відтавання і впливу матриці зразка (сироватка/плазма) на концентрацію людського Цистатину С.

Примітка: Рекомендується використовувати прецизійну піпетку і ретельну техніку проведення аналізу, щоб виконати розбавлення, для отримання точних результатів.

11. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

1. Внести **100 мкл** розведених Стандартів, Контролів якості, Буфера для розведення (= Бланк) і зразків, бажано в дублях, у відповідні лунки. Див. *Малюнок 1* для прикладу робочого листа.
2. Інкубувати при КТ (25 °С) протягом **30 хвилин** при струшуванні зі швидкістю 300 об/хв. на орбітальному мікропланшетному шейкері.
3. Вимити лунки 3 рази Розчином для Промивання (0.35 мл на лунку). Після останньої промивки, інвертувати і постукаєти планшетом по паперовому рушнику.
4. Додати **100 мкл** Розчину Кон'югату в кожну лунку.
5. Інкубувати при КТ (25 °С) протягом **30 хвилин** при струшуванні зі швидкістю 300 об/хв. на орбітальному мікропланшетному шейкері. Якщо інкубація проводиться без струшування, то час інкубації з субстратом має бути збільшено (див. крок 8).
6. Вимити лунки 3 рази Розчином для Промивання (0.35 мл на лунку). Після останньої промивки інвертувати і постукаєти планшетом по паперовому рушнику.
7. Додати **100 мкл** Розчину субстрату в кожну лунку. Не піддавати планшет дії прямих сонячних променів. Рекомендується накрити пластину алюмінієвою фольгою.
8. Інкубувати протягом **10 хвилин** при кімнатній температурі. Інкубаційний період може бути продовжений [20 хвилин], якщо температура реакції нижче ніж 20 °С. Не струшуйте пластину під час інкубації.
9. Зупинити розвиток кольору додаванням **100 мкл** Стоп-розчину.
10. Визначити оптичну щільність кожної лунки на планшетному рідері з довжиною хвилі 450 нм, бажано з еталонною довжиною хвилі, встановленою на 630 нм (прийнятний діапазон: 550-650 нм). Відняти покази при 630 нм (550-650 нм) від показів при довжині хвилі 450 нм. **Оптична щільність повинна бути зчитана протягом 5 хвилин після кроку 9.**

Примітка: Якщо деякі зразки і стандарт/и мають оптичні щільності вище верхньої межі вашого зчитувача, виконати друге зчитування на довжині хвилі 405 нм. Нова стандартна крива, побудована за допомогою значень, виміряних при 405 нм, використовується для визначення концентрації Цистатину С стандартів і зразків зі значеннями, що «зашкалюють». Покази на довжині хвилі 405 нм не повинні замінювати покази для зразків, які були «в діапазоні» при 450 нм.

Примітка 2: Ручне промивання: Аспірувати лунки і піпетувати 0.35 мл Розчину для промивання в кожну лунку. Аспірувати лунки і повторити двічі. Після останньої промивки, інвертувати і постукувати планшетом об паперовий рушник. Переконайтеся, що промивний розчин був видалений повністю.

	Смужка 1+2	Смужка 3+4	Смужка 5+6	Смужка 7+8	Смужка 9+10	Смужка 11+12
A	Стандарт 10000	Бланк	Зразок 8	Зразок 16	Зразок 24	Зразок 32
B	Стандарт 4000	Зразок 1	Зразок 9	Зразок 17	Зразок 25	Зразок 33
C	Стандарт 2000	Зразок 2	Зразок 10	Зразок 18	Зразок 26	Зразок 34
D	Стандарт 1000	Зразок 3	Зразок 11	Зразок 19	Зразок 27	Зразок 35
E	Стандарт 400	Зразок 4	Зразок 12	Зразок 20	Зразок 28	Зразок 36
F	Стандарт 200	Зразок 5	Зразок 13	Зразок 21	Зразок 29	Зразок 37
G	Контроль якості ВИСОКИЙ	Зразок 6	Зразок 14	Зразок 22	Зразок 30	Зразок 38
H	Контроль якості НИЗЬКИЙ	Зразок 7	Зразок 15	Зразок 23	Зразок 31	Зразок 39

12. РОЗРАХУНКИ

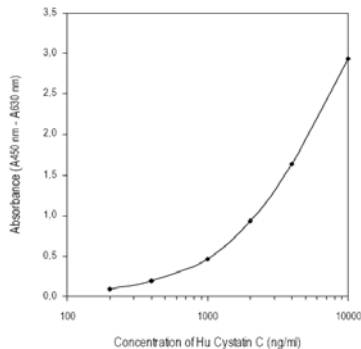
Більшість мікропланшетних зчитувачів виконують автоматичні розрахунки концентрації аналізованої речовини. Стандартна крива будується з відкладанням середньої величини абсорбції (Y) Стандартів проти відомої концентрації (X) Стандартів у логарифмічній шкалі, за допомогою 4-параметрового алгоритму. Результати представлені як концентрації Цистатину С нг/мл у зразках.

Крім того, функція *logit log* може бути використана для лінеаризації стандартної кривої, тобто *logit* середньої оптичної щільності (Y) представлено в залежності від логарифма відомої концентрації (X) стандартів. Використовуйте значення нерозведених стандартів: 10000, 4000, 2000, 1000, 400 і 200 нг/мл.

Так як стандарти, контролю і зразки були розведені в однаковій пропорції (400x), то не потрібно враховувати коефіцієнт розведення.

Результати виражаються як концентрація загального Цистатину С (нг/мл) в зразках сироватки/плазми. Для визначення концентрації в зразках, розведених інакше, ніж стандарти, помножте/розділіть результат, зчитаний з калібрувальної кривої, на коефіцієнт розведення.

Мал. 1: Типова Калібрувальна крива для Цистатину С людини



13. ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

» Типові аналітичні дані для набору BioVendor людський Цистатин С ELISA представлені в цьому розділі

• Чутливість

Межа виявлення (LOD) (визначається як концентрації аналіту, який дає оптичну щільність вище, ніж середнє значення оптичної щільності бланка* плюс три стандартних відхилення оптичної

щільності бланка: $A_{\text{blank}} + 3 \times SD_{\text{blank}}$) розраховується виходячи з реальних значень людського Цистатину С в лунках і становить 0.25 нг/мл.

* Буфер для Розведення піпетується в лунки бланк.

• Межа аналізу

Аналізи з результатами, що перевищують рівень Цистатину С 10 000 нг/мл, слід повторити з більш розбавленими зразками. Коефіцієнт розведення повинен бути прийнятий до уваги при розрахунку концентрації Цистатину С.

У наведеному прикладі (розведення зразків в **800 разів**) результат (отриманий з калібрувальної кривої) повинен бути **помножений на 2**.

Альтернативно: якщо зразок культуральної рідини розведений тільки **50x**, замість **400x**, через низьку концентрацію аналіту, результат (отриманий з калібрувальної кривої) повинен бути **розділений** на коефіцієнт розведення **8**, в даному випадку.

Калібрувальна крива будується без будь-яких змін, в обох зазначених випадках, тобто в нерозведених концентраціях: 10000, 4000, 2000, 1000, 400 і 200 нг/мл.

Зауваження: Діапазон калібрувальної кривої Цистатину С 10000 - 200 нг/мл, після розведення в 400 разів, дає в результаті актуальний діапазон концентрацій стандартів 25-0.25 нг/мл, що становить 2.5-0.025 нг/лунку. Таким чином, даний метод дозволяє проводити вимір 25-0.25 нг/мл в зразках, розлучених в 400 разів, що може допомогти у виборі розведення для зразків, відмінних від сироватки.

• Специфічність

Антитіла, які використовуються у цьому ІФА, є специфічними для людського Цистатину С.

Визначення Цистатину С не інтерферує з гемоглобіном (1.0 мг/мл), білірубінном (170 мкмоль/л) і тригліцидами (5.0 ммоль/л).

Сироватки декількох видів ссавців були виміряні в аналізі. Дивитися результати нижче.

Для отримання додаткової інформації, будь ласка, зв'яжіться з нами по info@biovendor.com.

Зразок сироватки ссавця	Перехресна реактивність
Бичачий	Немає
Кіт	Немає
Собака	Немає
Коза	Немає
Хом'як	Немає
Кінь	Немає
Мавпа	Є
Миша	Немає
Свиня	Немає
Кріль	Немає
Щур	Немає
Вівця	Немає

• Точність

Внутрішньосерійна (В аналізі) (n = 8)

Взіреть	Середнє (нг/мл)	SD (нг/мл)	CV (%)
1	1510	50	3.3
2	1787	63	3.5

Міжсерійна (Між аналізами) (n = 5)

Взіреть	Середнє (нг/мл)	SD (нг/мл)	CV (%)
1	1440	49	3.4
2	1712	179	10.4

• Відновлення після насичення

Зразки сироватки були насичені різними кількостями Цистатину С, розведеного Буфером для Розведення 400x, і проаналізовані.

Взіреть	Отримане (нг/мл)	Очікуване (нг/мл)	Відновлення От/Оч (%)
1	771	-	-
	1146	1171	98
	1435	1571	91
	2702	2771	98
2	978	-	-
	1338	1378	97
	1566	1778	88
	2904	2978	98

Лінійність

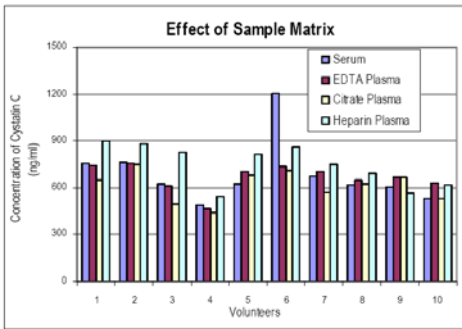
Зразки сироватки були серійно розведені Буфером для Розведення після розведення 400x, і проаналізовані.

Взорець	Розведення	Отримане (нг/мл)	Очікуване (нг/мл)	Відновлення От/Оч (%)
1	--	2773	-	-
	2x	1340	1387	97
	4x	662	693	95
	8x	353	347	102
2	--	2682	-	-
	2x	1289	1341	96
	4x	656	671	98
	8x	331	335	99

Вплив матриці зразка

ЕДТА, цитратна і гепаринова плазми були порівняні з відповідними зразками сироватки тих самих 10 осіб. Результати наведені нижче:

Волонтер	Сироватка (нг/мл)	Плазма (нг/мл)		
		ЕДТА	Цитратна	Гепаринова
1	759	744	647	903
2	763	755	749	885
3	623	610	499	829
4	491	465	444	543
5	625	707	679	815
6	1206	737	712	862
7	676	706	574	753
8	619	646	624	690
9	605	669	668	570
10	527	631	528	619
Середнє (нг/мл)	689	667	612	747
Середнє Плазма/Сироватка (%)	--	97	89	108
Коефіцієнт детермінації R²	--	0.97	0.97	0.97



Малюнок 3: Рівні Цистатину С, виміряні за допомогою Nitap Цистатин С ELISA у 10 пацієнтів, з використанням сироватки, ЕДТА, цитратної і гепаринової плазми, відповідно.

Стабільність зразків, що зберігаються при 2-8 °С

Зразки слід зберігати при температурі -80 °С. Проте, зниження концентрації Цистатину С не спостерігалось в зразках сироватки та плазми після 7 днів при зберіганні при температурі 2-8 °С. Щоб уникнути мікробного забруднення, зразки обробляли ε-амінокапроною кислотою і азидом натрію, в результаті чого кінцеві концентрації склали 0.03% і 0.1%, відповідно.

Взорець	Температура інкубації, Період	Сироватка (нг/мл)	Плазма (нг/мл)		
			ЕДТА	Цитратна	Гепаринова
1	-80 °С	1023	700	620	639
	2-8 °С, 1 день	921	773	592	648
	2-8 °С, 7 днів	1171	762	615	647
2	-80 °С	707	719	571	621
	2-8 °С, 1 день	725	737	568	606
	2-8 °С, 7 днів	618	634	482	563
3	-80 °С	625	660	483	603
	2-8 °С, 1 день	639	637	499	620
	2-8 °С, 7 днів	636	651	552	603
4	-80 °С	530	549	466	579
	2-8 °С, 1 день	561	568	518	529
	2-8 °С, 7 днів	502	610	486	512

Вплив заморожування/розморожування

Не спостерігалось зниження концентрації людського Цистатину С в зразках сироватки та плазми після неодноразових (5x) циклів заморожування/відтавання. Однак рекомендується, уникати непотрібного повторного заморожування/відтавання зразків.

Взорець	Кількість циклів з/в	Сироватка (нг/мл)	Плазма (нг/мл)		
			ЕДТА	Цитратна	Гепаринова
1	1x	785	774	544	867
	3x	855	765	602	783
	5x	789	755	615	746
2	1x	599	721	613	719
	3x	549	715	531	734
	5x	632	676	632	740
3	1x	618	473	310	624
	3x	523	554	260	545
	5x	593	553	855	629
4	1x	387	518	394	454
	3x	370	411	354	442
	5x	461	465	349	497

14. ВИЗНАЧЕННЯ СТАНДАРТУ

Стандарти, використовувані в даному наборі, є нативними протеїнами.

Стандарти, що використовуються в наборі, були прокалібровані відносно Європейського Референтного Матеріалу ERM-DA471/IFCC.

15. ВИЗНАЧЕННЯ ЦИСТАТИНУ С В СЕЧІ

Для визначення Цистатину С в сечі можна використовувати протокол для зразків сироватки/плазми, з наступними змінами:

Збір та зберігання зразків

Рекомендується заморожувати зразки; хоча не спостерігається значного зниження концентрації Цистатину С в зразках при зберіганні при 4 °С протягом 14 днів.

Підготовка зразків

Розведіть зразки сечі в 20 разів Буфером для Розведення безпосередньо перед початком тестування, наприклад: 20 мкл зразка + 380 мкл Буфера для Розведення.

Стабільність та зберігання:

Необроблені зразки стабільні протягом 3 місяців при зберіганні замороженими при -20 °С/-70 °С. **Не зберігайте розведені зразки.**

Розрахунок результатів

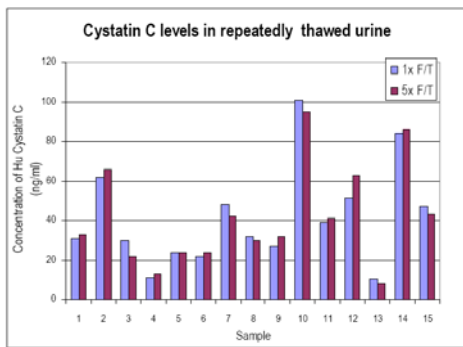
Калібрувальна крива будується з використанням значень нерозведених стандартів: 10000, 4000, 2000, 1000, 400 і 200 нг/мл. Так як зразки сечі розводяться тільки в 20 разів, а стандарти розводять в 400 разів, то для отримання реальної концентрації у вихідному (нерозведеному) зразку результат (зчитаний з калібрувальної кривої) повинен бути розділений на коефіцієнт розведення 20.

Вплив повторних циклів заморожування/відтавання на концентрацію людського Цистатину С в зразках сечі

Рівні Цистатину С визначали в зразках ранкової сечі 15 пацієнтів, що проходили обстеження з приводу діагностованої дисфункції нирок. У всіх зразках концентрація білка була < 0.3 г/день і нормальна кількість лейкоцитів у сечі.

Результати дослідження наведені нижче:

Sample No.	Cystatin C (ng/ml)	
	1x F/T	5x F/T
1	31	33
2	62	66
3	30	22
4	11	13
5	24	24
6	22	24
7	48	42
8	32	30
9	27	32
10	101	95
11	39	41
12	51	63
13	10	8
14	84	86
15	47	43



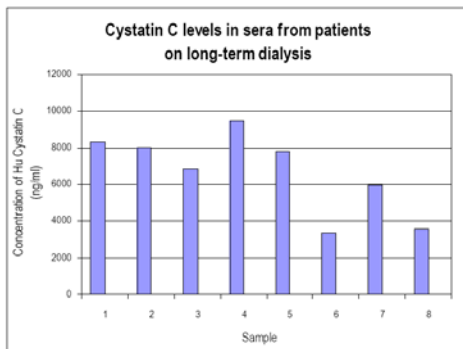
Мал. 4: Концентрацію Цистатину С визначали після повторних циклів заморожування/відтавання. Зразки були взяті у пацієнтів з прогнозованою дисфункцією нирок.

16. ПОПУЛЯЦІЯ ТА КЛІНІЧНІ ДАНІ

• Визначення Цистатину С

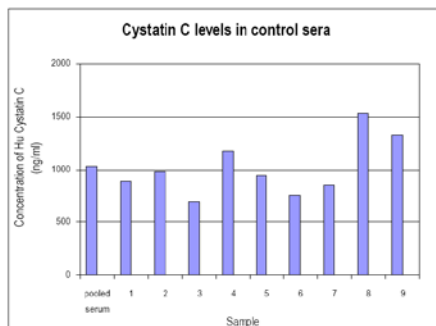
Певні рівні Цистатину С в сироватці порівнювалися у 8 пацієнтів з довгостроковим діалізом і 10 здорових пацієнтів:

Sample No.	Cystatin C (ng/ml)	CV (%)
1	8 335	6
2	8 014	8
3	6 822	1
4	9 464	8
5	7 844	8
6	3 366	4
7	5 955	1
8	3 583	14



Мал. 5: Концентрації Цистатину С визначалися у зразках сироватки від 8 пацієнтів на довгостроковому діалізі.

Sample No.	Cystatin C (ng/ml)	CV (%)
pooled serum	1 032	11
1	885	9
2	979	4
3	703	8
4	1 178	6
5	943	8
6	751	9
7	850	5
8	1 532	6
9	1 328	2



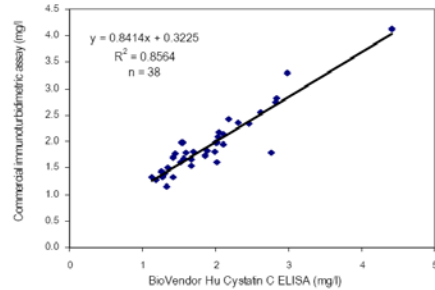
Мал. 6: Зразки від 9 волонтерів і пулована сироватка були використані як контрольна сироватка.

• Контрольний діапазон

Дані, наведені в цій інструкції, повинні використовуватися тільки для прикладу. Рекомендується, щоб кожна лабораторія включила власну панель контрольного зразка в аналізі. Кожна лабораторія повинна встановити власні контрольні діапазони нормальних і патологічних значень для рівнів Цистатину С рівнях з аналізом.

17. ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ

Набір BioVendor людський Цистатин С ІФА не був порівняний з будь-яким іншим комерційним набором з використанням 38 зразків сироватки.



18. УСУНЕННЯ НЕПОЛАДОК І ПИТАННЯ, ЯКІ НАЙЧАСТІШЕ ЗАДАЮТЬСЯ

» Слабкий сигнал у всіх лунках

Можливі пояснення:

- Пропущений реагент або крок
- Неправильне приготування або зберігання реагенту
- Аналіз виконується до того, як реагенти були приведені до кімнатної температури
- Неправильна довжина хвилі при зчитуванні абсорбції

» Високий сигнал і фон у всіх лунках

Можливі пояснення:

- Неправильне або недостатнє промивання
- Перетримка; Інкубаційний період з Розчином Субстрату повинен бути знижений до додавання Стоп-розчину
- Температура інкубації понад 30 °C

» Високий коефіцієнт варіації (КВ)

Можлива причина:

- Неправильне або недостатнє промивання
- Неправильне змішування Стандартів, Контролів Якості або зразків



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