

ME E-0100 C-пептид, набор реагентов для ИФА.

Набор реагентов для ИФА для прямого количественного определения C-пептида в сыворотке человека. Для in-vitro диагностики.

Храните реагенты при 2 - 8 °C до истечения срока годности, указанного на упаковке

1. Дополнительные необходимые материалы и оборудование, не входящие в комплект:

- прецизионные микропипетки с одноразовыми наконечниками на 50, 100 и 300 мкл
- дистиллированная или деионизированная вода
- микропланшетный шейкер
- Микропланшетный анализатор с фильтром, установленным на длине 450 нм и пределом ОП 3.0 или больше

2. Компоненты набора.

1. Разборный микропланшет, покрытый мышиными анти-C-пептид антителами.

Готов к использованию.

Содержит: Один 96 луночный (12x8) микропланшет с моноклональными антителами в закрывающемся пакете с осушителем.

Хранение: при 2 - 8 °C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

2. Концентрированный конъюгат содержащий мышиные анти-C-пептид антитела-пероксидаза хрена (HRP) (X 100)

Содержит: конъюгат анти-C-пептид моноклональных антител-HRP в буферном растворе с консервантом не содержащем ртуть.

Объем: 300 мкл/флаконе

Хранение: при 2 - 8 °C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

Способ приготовления: развести 1:100 с буфером для анализа перед использованием (например, 20 мкл HRP в 2 мл буфера). Если будет использоваться весь планшет то нужно развести 120 мкл HRP в 12 мл буферного раствора для анализа. Не использовать, что осталось.

3. Калибраторы. Готовы к использованию

Содержит: шесть флаконов содержащих раствор C-пептида в основном буфере с консервантом не содержащем ртуть. Содержат заданные концентрации C-пептида в буферном растворе. Калиброваны согласно рекомендациям ВОЗ IS 84/510.

Ниже приведены приближенные концентрации, пожалуйста, обратитесь к этикетке флакона для точной концентрации

Калибратор	Концентрация	Объем
Калибратор А	0 нг/мл	2.0 мл
Калибратор В	0.3 нг/мл	0.6 мл
Калибратор С	0.8 нг/мл	0.6 мл
Калибратор D	2 нг/мл	0.6 мл
Калибратор E	8 нг/мл	0.6 мл
Калибратор F	16 нг/мл	0.6 мл

Хранение: Калибратор или аликвоты следует использовать в течении 14 дней и хранят в замороженном виде. Избегайте нескольких циклов замораживания/оттаивания.

Стабильность: 12 месяцев или, как указано на этикетке, в закрытых флаконах. Хранят в замороженном виде.

4. Контроли. Готовы к использованию.

Содержит: 2 флакона содержащих раствор C-пептида в основном буфере с консервантом не содержащем ртуть. Содержат заданные концентрации C-пептида в буферном растворе. Диапазон ожидаемого значения указан на этикетке флакона.

Объём: 0.6 мл/флаконе

Хранение: Контроли или аликвоты следует использовать в течении 14 дней и хранят в замороженном виде. Избегайте нескольких циклов замораживания/оттаивания.

Стабильность: 12 месяцев или, как указано на этикетке, в закрытых флаконах. Хранят в замороженном виде.

5. Концентрированный промывочный буферный раствор (X 10)  
Содержит: 1 бутыл с не ионным промывочным раствором и консервантом не содержащим ртуть.  
Объём: 50 мл/бутыл  
Хранение: при 2-8 °C  
Стабильность: 12 месяцев или, как указано на этикетке  
Способ приготовления: Перед использованием разведите дистиллированной или деионизированной водой 1:10. Если будет использован весь планшет, то разбавьте 50 промывочного буфера с 450 мл воды.
6. Буфер для анализа. Готов к использованию.  
Содержит: 1 флакон, содержащий основной белковый буферный раствор с консервантом не содержащим ртуть.  
Объём: 15 мл/флаконе  
Хранение: при 2 - 8 °C  
Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке
7. ТМВ-субстрат. Готов к использованию.  
Содержит: Один флакон, содержащий тетраметилбензидин и перекись водорода в не-DMF или DMSO содержащем буфере.  
Объём: 16 мл/флаконе  
Хранение: при 2 - 8 °C  
Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке
8. Стоп-раствор. Готов к использованию.  
Содержит: 1 флакон, содержащий 1 М серной кислоты.  
Объём: 6 мл/флаконе  
Хранение: при 2 - 8 °C  
Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

#### Процедура анализа

Перед использованием все реагенты должны достичь комнатной температуры. Калибраторы, контроли и образцы проб должны быть исследованы в дублях. Как только процедура начата, все этапы должны быть завершены без перерыва.

1. Приготовьте рабочие растворы конъюгата и промывочного буфера.
2. Извлеките необходимое количество стрипов. Неиспользованные поместите обратно в упаковку, герметично закупорьте и поместите в холодильник.
3. Пипетируйте и внесите 50 мкл каждого калибратора, контроля и образца сыворотки в соответствующие лунки в дублях.
4. Пипетируйте и внесите 50 мкл рабочего раствора конъюгата в каждую лунку (Мы рекомендуем использовать многоканальную пипетку).
5. Инкубируйте в шейкере при 200 об./мин. в течение 90 минут при комнатной температуре.
6. Промойте каждую лунку 3 раза внося по 300 мкл раствора промывочного буфера, удаляя остатки влаги абсорбирующей бумагой. (мы рекомендуем использовать вошер)
7. Добавьте 150 мкл ТМВ-субстрата в каждую лунку через заданные интервалы времени.
8. Инкубируйте в шейкере в течение 15-20 минут при комнатной температуре (или до тех пор, когда калибратор F станет синего цвета при достижении желаемой ОП).
9. Добавьте 50 мкл Стоп-раствора в каждую лунку через те же интервалы, что и в этапе 7.
10. Считайте результат на микропланшетном анализаторе при 450 нм в течение 20 минут после добавления Стоп-раствора. (Если ОП превышает верхний предел обнаружения или фильтр 450 нм недоступен, то можно заменить на фильтр 405 или 415nm. Оптические плотности будут ниже, однако, это не повлияет на результаты пациентов/контрольные пробы.)

#### Расчет результатов.

1. рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора в дублях.
2. рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого неизвестного в дублях.

3. Вычтите среднее значение абсорбции "0" калибратора от средних значений оптической плотности калибраторов, контроля и образцов сыворотки
4. Нарисуйте калибровочную кривую на логарифмической бумаге со средней оптической плотности на оси ординат и концентрацией калибратора на оси абсцисс. Если для анализа используется программное обеспечение, то рекомендуется кривая на 4-параметра.
5. Рассчитайте значение неизвестных при помощи калибровочной кривой.
6. Если образец получается более 16 нг/мл, то разведите его с калибратором А в разведении не более 1:8. Полученный результат следует умножить на фактор разведения.

Типичная таблица (не используйте для расчета)

Калибратор	ОП 1	ОП 2	Средняя ОП	Концентрация (нг/мл)
A	0.068	0.069	0.067	0
B	0.089	0.086	0.087	0.2
C	0.111	0.112	0.112	0.5
D	0.412	0.383	0.398	2
E	1.704	1.648	1.676	8
F	2.454	2.307	2.381	16
Неизвестная	0.292	0.311	0.302	1.6

Типичная калибровочная кривая (не используйте для расчета)  
см. оригинал инструкции.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ: 0,2 нг / мл.

ОЖИДАЕМЫЕ НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ:

Это же касается всех клинических анализов, каждая лаборатория должна собирать данные и создавать свои собственные диапазоны ожидаемых нормальных значений

Группа	N	Среднее (нг/мл)	Диапазон (нг/мл)
Мужчины	26	0.89	0.24-1.98
Женщины	46	1.13	0.15-5.37