Akts

HiPo, 96-iedobju mikroplates fotometram (Biosan, Latvija) un QuantAssay analīzes programmatūrai (Biosan, Latvija) priekš enzīmu imunosorbcijas (ELISA) reakciju iestatīšanas, nolasīšanas un analīzes, ir veikti klīniskie pētījumi izmantojot komerciālus reaģentu komplektus Interleikīna 8 un 10 (IL-8, IL-10) kvantitatīvajai noteikšanai hroniskas nieru slimības diagnozei (Vector-Best, Krievija).

Klīniskie pētījumi tika veikti Rīgas Stradiņa Universitātes Klīniskās imunoloģijas un imunoģenētikas laboratorijā, Latvijā.

Klīniskajos pētījumos tika izmantoti komerciālie ELISA komplekti IL-8 (Interleikīna-8 - ELISA - ABTS) un IL-10 (Interleikīna-10 - ELISA - ABTS) koncentrācijas noteikšanai cilvēka bioloģiskajos šķidrumos un kultivēšanas barotnēs. Visās reakcijās tika izmantota mārrutku peroksidāze kā enzimātiskais apzīmējums, savukārt tertrametilbenzidīns tika izmantots kā tās substrāts. Rezultātu reģistrācija tika veikta paralēli uz abām ierīcēm pie viļņu garuma 450 nm: uz fotometra ELx800 (Biotek, ASV) un uz HiPo (Biosan, Latvija). Paralēli tika veikta arī rezultātu analīze, izmantojot programmatūras GEM5 (Biotek, ASV) un QuantAssay (Biosan, Latvija).

IL-8 rezultāti

Paraugu izvietojums 96-iedobju mikroplatē

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Std. 1	Std. 1	Smp. 2	Smp. 2	Smp. 10	Smp. 10	Smp. 18	Smp. 18	Smp. 26	Smp. 26	Smp. 34	Smp. 34
B	Std. 2	Std. 2	Smp. 3	Smp. 3	Smp. 11	Smp. 11	Smp. 19	Smp. 19	Smp. 27	Smp. 27	Smp. 35	Smp. 35
C	Std. 3	Std. 3	Smp. 4	Smp. 4	Smp. 12	Smp. 12	Smp. 20	Smp. 20	Smp. 28	Smp. 28	Smp. 36	Smp. 36
D	Std. 4	Std. 4	Smp. 5	Smp. 5	Smp. 13	Smp. 13	Smp. 21	Smp. 21	Smp. 29	Smp. 29	Smp. 37	Smp. 37
E	Std. 5	Std. 5	Smp. 6	Smp. 6	Smp. 14	Smp. 14	Smp. 22	Smp. 22	Smp. 30	Smp. 30	Smp. 38	Smp. 38
F	Std. 6	Std. 6	Smp. 7	Smp. 7	Smp. 15	Smp. 15	Smp. 23	Smp. 23	Smp. 31	Smp. 31	Smp. 39	Smp. 39
G	PC	PC	Smp. 8	Smp. 8	Smp. 16	Smp. 16	Smp. 24	Smp. 24	Smp. 32	Smp. 32	Smp. 40	Smp. 40
H	Smp. 1	Smp. 1 (1:2)	Smp. 9	Smp. 9	Smp. 17	Smp. 17	Smp. 25	Smp. 25	Smp. 33	Smp. 33	Smp. 41	Smp. 41

Std. — Standarta kontroles paraugs; Smp. — Testa paraugs; (1:2) — atšķaidījums; PC — Pozitīvās kontroles paraugs

IL-8, absorbcijas vērtības

Elx800, paraugu absorbcijas vērtības, λ = 450 nm

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.052	0.053	0.110	0.119	0.082	0.080	0.167	0.180	0.755	0.730	0.154	0.146
B	0.142	0.160	0.553	0.530	0.121	0.117	0.167	0.180	0.132	0.123	0.721	0.703
C	0.387	0.408	0.313	0.284	0.104	0.097	0.168	0.190	0.614	0.582	0.872	0.784
D	1.046	0.966	0.164	0.157	0.247	0.217	0.152	0.178	1.188	0.910	0.719	0.637
E	2.128	2.046	0.341	0.313	0.089	0.086	0.651	0.779	0.460	0.406	0.135	0.123
F	3.786	3.644	0.112	0.099	0.098	0.093	0.640	0.584	0.249	0.232	0.258	0.229
G	1.719	1.759	0.091	0.092	0.109	0.098	0.367	0.223	0.173	0.154	0.371	0.347
H	1.012	0.586	0.087	0.079	0.112	0.112	0.403	0.420	0.088	0.083	0.587	0.494

HiPo, paraugu absorbcijas vērtības, λ = 450 nm

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.047	0.047	0.108	0.111	0.071	0.070	0.158	0.174	0.746	0.721	0.147	0.138
B	0.143	0.164	0.557	0.533	0.124	0.118	0.169	0.177	0.134	0.127	0.723	0.697
C	0.392	0.407	0.317	0.283	0.106	0.097	0.169	0.190	0.613	0.572	0.864	0.775
D	1.044	0.973	0.164	0.153	0.242	0.209	0.148	0.175	1.179	0.904	0.715	0.644
E	2.127	2.062	0.349	0.316	0.089	0.084	0.651	0.774	0.457	0.406	0.139	0.125
F	3.743	3.801	0.109	0.102	0.105	0.097	0.646	0.581	0.253	0.235	0.263	0.237
G	1.708	1.766	0.088	0.089	0.106	0.094	0.364	0.221	0.166	0.145	0.369	0.344
H	0.995	0.584	0.077	0.074	0.104	0.102	0.391	0.412	0.079	0.077	0.582	0.495

Mērījumu rezultātu, kas iegūti uz fotometra Hipo, relatīvā novirze no mērījumu rezultātiem, kas iegūti uz Elx 800

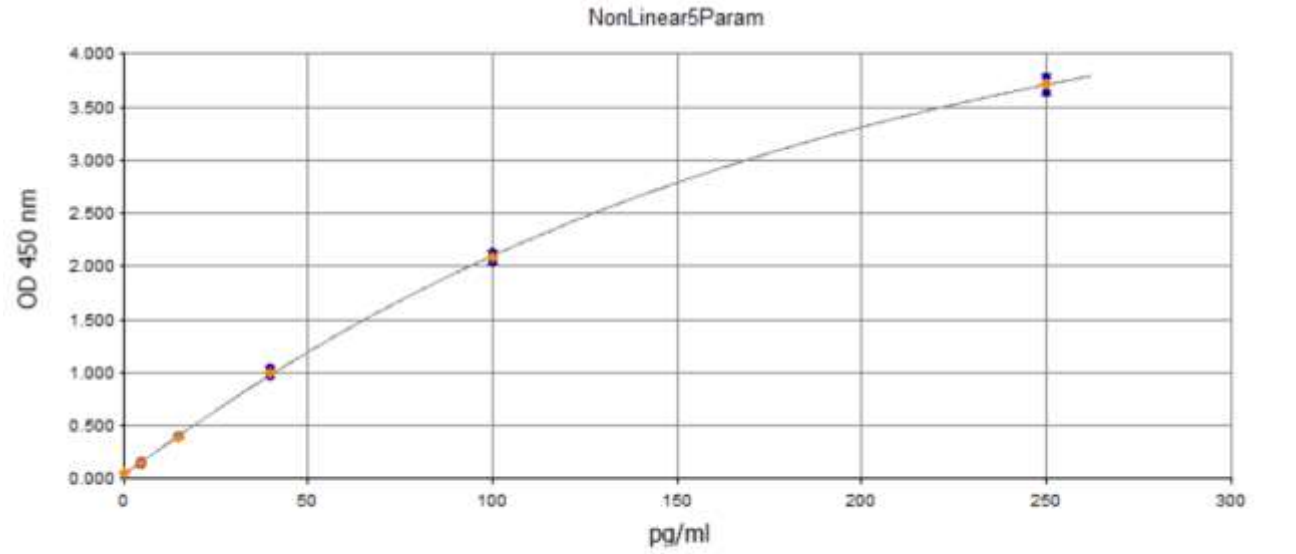
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	10%	12%	2%	7%	16%	14%	5%	3%	1%	1%	5%	6%
B	0%	3%	1%	1%	2%	1%	1%	1%	1%	3%	0%	1%
C	1%	0%	1%	0%	1%	0%	0%	0%	0%	2%	1%	1%
D	0%	1%	0%	3%	2%	4%	2%	2%	1%	1%	1%	1%
E	0%	1%	2%	1%	0%	3%	0%	1%	1%	0%	3%	1%
F	1%	4%	2%	3%	7%	5%	1%	1%	1%	1%	2%	4%
G	1%	0%	3%	3%	3%	4%	1%	1%	4%	6%	1%	1%
H	2%	0%	13%	7%	8%	10%	3%	2%	11%	8%	1%	0%

Rezultāti

Rezultātu novērtēšana un interpretācija tika veikta programmatūrā, ievietojot standarta kontroles paraugu absorbcijas vērtības kalibrēšanas līknēs: GEM 5 (Biotek, ASV) - rezultātiem, kas iegūti uz Elx800 un QuantAssay (Biosan, Latvija)- rezultātiem, kas iegūti uz Hipo.

Kalibrēšanas līkne, GEM5

Rezultāti tika apreķināti ievietojot 6 standarta kontroles paraugu absorbcijas vērtības (divos eksemplāros) 5 parametru loģistiskajā modelī (5PL).



Curve Name	Curve Formula	A	B	C	D	E	RI
NonLinear5Param	Y = (A-D)/(1+(X/C)^B)^E + D	0.0445	1.05	793	5.29	4.6	1

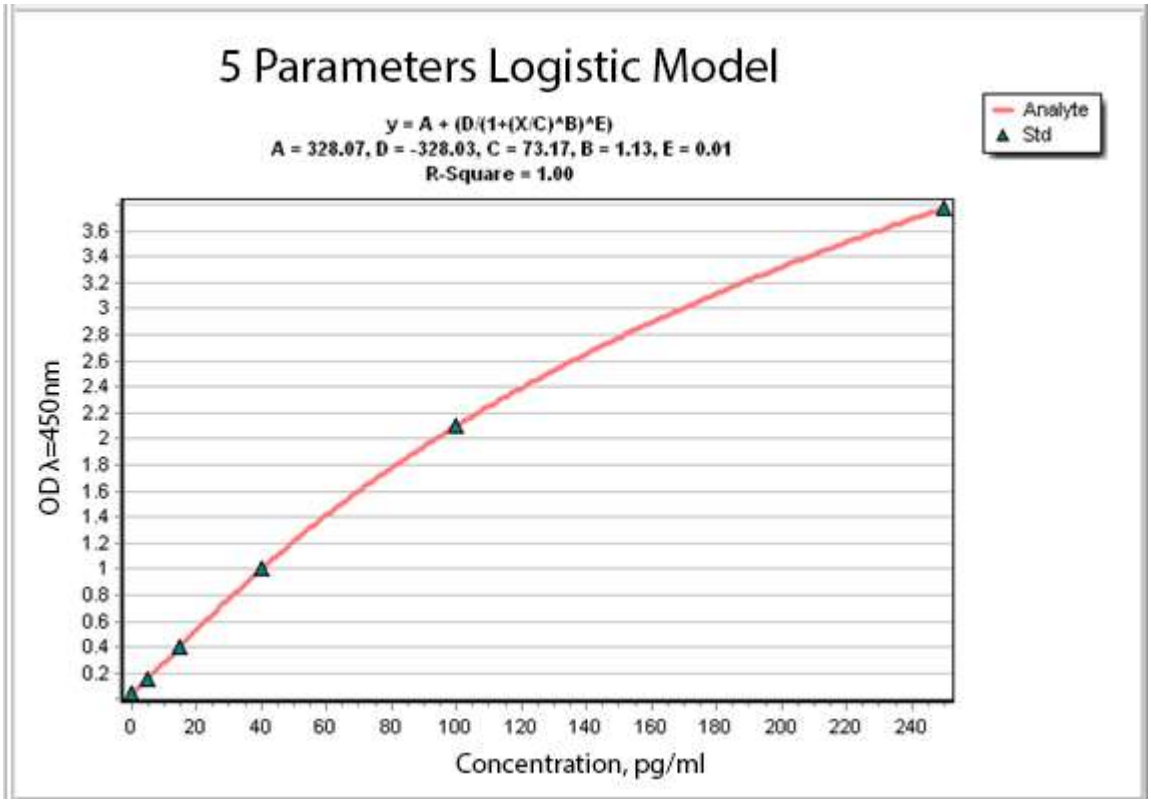
Diagrammas teksta tulkojums : NonLinear5Param – nelineārs 5 parametru, curve name – līknes nosaukums, curve fornula – līknes formula

Standartu koncentrācijas aprēķina rezultāti

Standarts, pg/nm	Plate	Gem 5, pg/nm	Novirze
0	A1	0.36	—
5	B1	4.16	17%
15	C1	14.20	5%
40	D1	42.93	7%
100	E1	101.70	2%
250	F1	260.93	4%
0	A2	0.40	—
5	B2	4.90	2%
15	C2	15.06	0%
40	D2	39.23	2%
100	E2	96.52	3%
250	F2	240.54	4%

Kalibrēšanas līkne, QuantAssay

Rezultāti tika apreķināti ievietojot 6 standarta kontroles paraugu absorbcijas vērtības (divos eksemplāros) 5 parametru loģistiskajā modelī (5PL).



Diagrammas teksta tulkojums : 5 Parameters Logistic Model - 5 parametru loģistiskais modelis, concentration - koncentrācija

Standartu koncentrācijas aprēķina rezultāti

Standarts, Pg/ml	Plate	QuantAssay, Pg/ml	Novirze
0	A1	<0.00	—
5	B1	4.45	11%
15	C1	14.44	4%
40	D1	42.10	5%
100	E1	101.76	2%
250	F1	246.62	1%
0	A2	0.13	—
5	B2	5.34	7%
15	C2	15.03	0%
40	D2	38.84	3%
100	E2	97.53	2%
250	F2	253.57	1%

Paraugu koncentrācija apreķināta programmatūrā GEM5, pg / ml

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.36	0.40	2.84	3.21	1.66	1.58	5.19	5.72	29.79	28.70	4.65	4.32
B	4.16	4.90	21.11	20.15	3.29	3.13	5.19	5.72	3.75	3.38	28.31	27.53
C	14.20	15.06	11.16	9.97	2.59	2.29	5.23	6.13	23.70	22.34	34.97	31.06
D	42.93	39.23	5.06	4.78	8.46	7.23	4.57	5.64	49.67	36.69	28.22	24.68
E	101.70	96.52	12.30	11.16	1.96	1.83	25.28	30.84	17.22	14.98	3.87	3.38
F	260.93	240.54	2.92	2.38	2.33	2.13	24.81	22.43	8.54	7.84	8.91	7.72
G	77.23	79.48	2.04	2.08	2.79	2.33	13.37	7.48	5.43	4.65	13.54	12.55
H	41.35	22.51	1.87	1.53	2.92	2.92	14.86	15.56	1.91	1.70	22.55	18.64

Paraugu koncentrācija apreķināta programmatūrā QuantAssay, pg / ml

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.00	0.13	2.97	3.13	1.32	1.31	5.09	5.75	28.93	27.84	4.63	4.25
B	4.45	5.34	21.08	20.08	3.67	3.43	5.53	5.87	4.08	3.78	27.92	26.85
C	14.44	15.03	11.45	10.09	2.88	2.50	5.52	6.38	23.37	21.67	34.01	30.16
D	42.10	38.84	5.31	4.88	8.48	7.14	4.69	5.77	48.41	35.75	27.58	24.63
E	101.76	97.53	12.71	11.42	2.14	1.92	24.93	30.09	17.03	15.01	4.30	3.70
F	246.62	253.57	3.04	2.74	2.86	2.53	24.71	22.03	8.90	8.19	9.30	8.29
G	76.05	79.43	2.13	2.16	2.88	2.39	13.31	7.64	5.40	4.53	13.51	12.53
H	39.82	22.15	1.63	1.46	2.80	2.71	14.41	15.23	1.72	1.61	22.07	18.55

IL-10 rezultāti

Paraugu izvietojums 96-iedobju mikroplatē

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Std. 1	Std. 1	Smp. 2	Smp. 2	Smp. 10	Smp. 10	Smp. 18	Smp. 18	Smp. 26	Smp. 26	Smp. 34	Smp. 34
B	Std. 2	Std. 2	Smp. 3	Smp. 3	Smp. 11	Smp. 11	Smp. 19	Smp. 19	Smp. 27	Smp. 27	Smp. 35	Smp. 35
C	Std. 3	Std. 3	Smp. 4	Smp. 4	Smp. 12	Smp. 12	Smp. 20	Smp. 20	Smp. 28	Smp. 28	Smp. 36	Smp. 36
D	Std. 4	Std. 4	Smp. 5	Smp. 5	Smp. 13	Smp. 13	Smp. 21	Smp. 21	Smp. 29	Smp. 29	Smp. 37	Smp. 37
E	Std. 5	Std. 5	Smp. 6	Smp. 6	Smp. 14	Smp. 14	Smp. 22	Smp. 22	Smp. 30	Smp. 30	Smp. 38	Smp. 38
F	Std. 6	Std. 6	Smp. 7	Smp. 7	Smp. 15	Smp. 15	Smp. 23	Smp. 23	Smp. 31	Smp. 31	Smp. 39	Smp. 39
G	PC	PC	Smp. 8	Smp. 8	Smp. 16	Smp. 16	Smp. 24	Smp. 24	Smp. 32	Smp. 32	Smp. 40	Smp. 40
H	Smp. 1	Smp. 1	Smp. 9	Smp. 9	Smp. 17	Smp. 17	Smp. 25	Smp. 25	Smp. 33	Smp. 33	Smp. 41	Smp. 41

Std. — Standarta kontroles paraugs; Smp. — Testa paraugs; (1:2) — atšķaidījums; PC — Pozitīvās kontroles paraugs

IL-10 plates absorbcijas vērtības

Elx800, paraugu absorbcijas vērtības, λ = 450 nm

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.100	0.101	0.144	0.152	0.110	0.108	0.125	0.119	0.130	0.122	0.112	0.107
B	0.130	0.137	0.118	0.118	0.114	0.107	0.115	0.125	0.103	0.097	0.107	0.124
C	0.231	0.241	0.086	0.092	0.135	0.137	0.126	0.122	0.108	0.104	0.114	0.118
D	0.425	0.455	0.102	0.104	0.130	0.133	0.104	0.106	0.114	0.119	0.108	0.114
E	1.385	1.469	0.120	0.119	0.131	0.131	0.114	0.108	0.105	0.100	0.099	0.110
F	3.115	3.317	0.112	0.109	0.109	0.113	0.105	0.104	0.106	0.098	0.099	0.108
G	1.123	1.186	0.119	0.122	0.101	0.101	0.098	0.098	0.109	0.109	0.101	0.105
H	0.108	0.112	0.106	0.102	0.110	0.108	0.101	0.108	0.098	0.094	0.110	0.109

HiPo, paraugu absorbcijas vērtības, λ = 450 nm

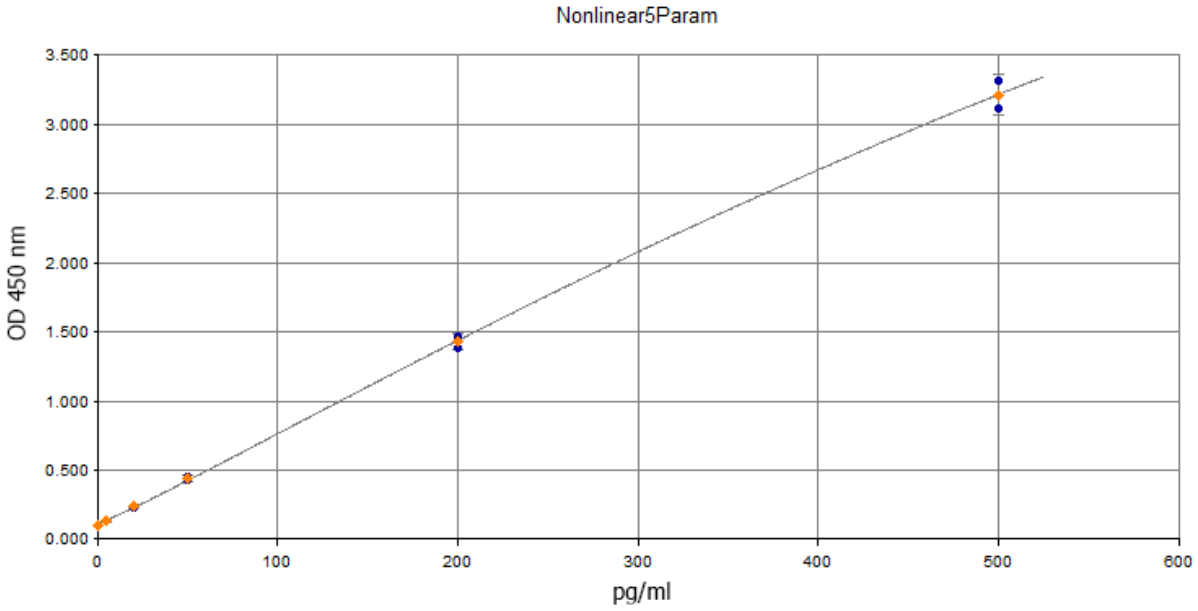
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.099	0.100	0.150	0.155	0.113	0.109	0.132	0.123	0.131	0.118	0.108	0.106
B	0.131	0.136	0.122	0.120	0.124	0.117	0.123	0.124	0.099	0.098	0.104	0.105
C	0.229	0.244	0.093	0.104	0.142	0.140	0.159	0.126	0.109	0.104	0.109	0.112
D	0.421	0.462	0.108	0.104	0.131	0.148	0.115	0.118	0.114	0.113	0.105	0.106
E	1.389	1.471	0.124	0.126	0.135	0.137	0.116	0.107	0.105	0.106	0.101	0.116
F	3.115	3.355	0.109	0.115	0.113	0.110	0.106	0.099	0.103	0.099	0.094	0.104
G	1.111	1.187	0.119	0.119	0.100	0.102	0.097	0.097	0.104	0.107	0.101	0.103
H	0.133	0.109	0.104	0.097	0.105	0.106	0.096	0.108	0.093	0.091	0.103	0.104

Mērījumu rezultātu, kas iegūti uz fotometra Hipo, relatīvā novirze no mērījumu rezultātiem, kas iegūti uz Elx 800

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1%	1%	4%	2%	3%	1%	6%	4%	1%	3%	3%	0%
B	0%	1%	3%	2%	8%	9%	7%	1%	4%	1%	2%	16%
C	1%	1%	8%	13%	5%	2%	26%	4%	1%	0%	4%	5%
D	1%	2%	6%	0%	1%	11%	11%	11%	0%	5%	3%	7%
E	0%	0%	3%	6%	3%	4%	2%	1%	0%	6%	2%	5%
F	0%	1%	3%	6%	4%	3%	1%	5%	3%	1%	5%	4%
G	1%	0%	0%	2%	1%	1%	1%	1%	5%	2%	0%	2%
H	23%	2%	2%	5%	5%	1%	5%	0%	6%	3%	7%	4%

Kalibrēšanas līkne, GEM5

Rezultāti tika apreķināti ievietojot 6 standarta kontroles paraugu absorbcijas vērtības (divos eksemplāros) 5 parametru loģistiskajā modelī (5PL).



Curve Name	Curve Formula	A	B	C	D	E	RI
Nonlinear5Param	Y = (A-D)/(1+(X/C)^B)^E + D	0.113	1.1	1.09E+005	7.77	193	1

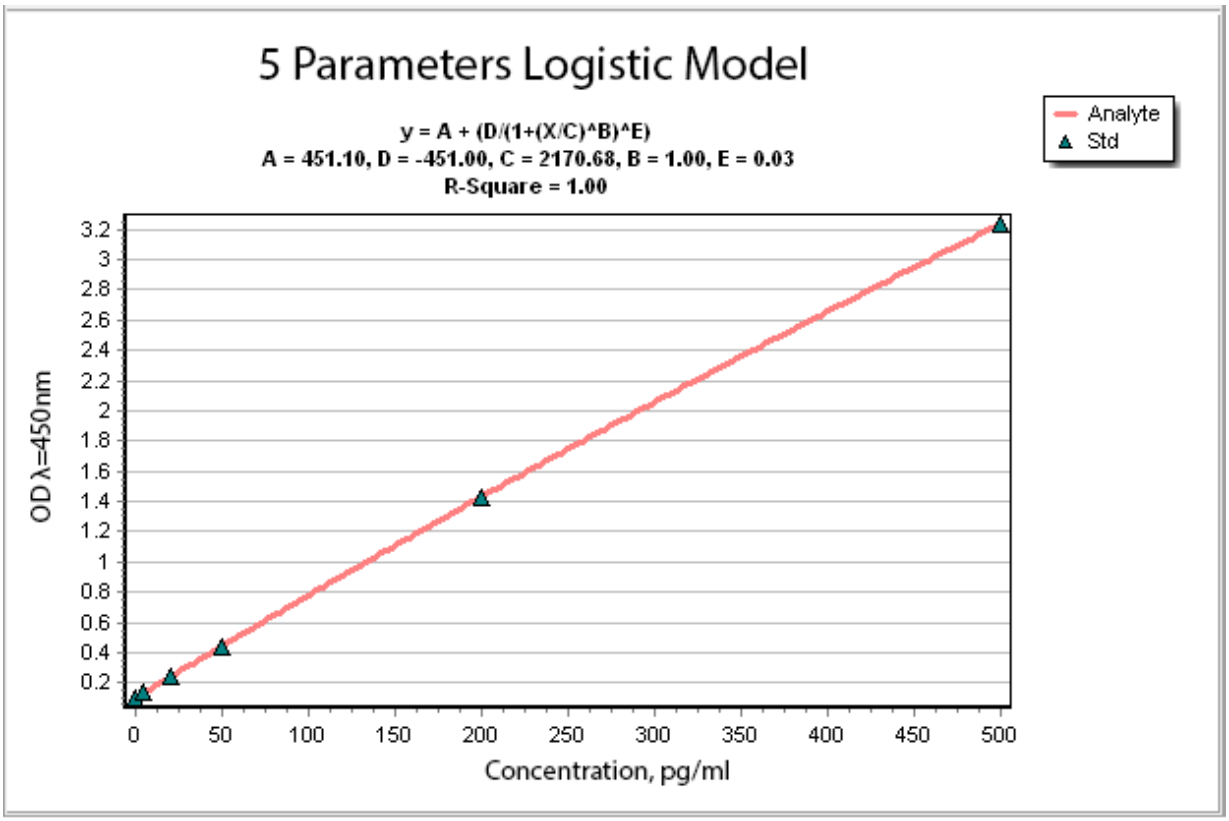
Diagrammas teksta tulkojums : NonLinear5Param – nelineārs 5 parametru, curve name – līknes nosaukums, curve fornula – līknes formula

Standartu koncentrācijas aprēķina rezultāti

Standarts, pg/ml	Plate	Gem 5, pg/ml	Novirze
0	A1	0.00	—
5	B1	3.48	30%
20	C1	20.47	2%
50	D1	50.19	0%
200	E1	191.97	4%
500	F1	480.56	4%
0	A2	0.00	—
5	B2	4.77	5%
20	C2	22.06	10%
50	D2	54.66	9%
200	E2	204.66	2%
500	F2	519.44	4%

Kalibrēšanas līkne, QuantAssay

Rezultāti tika apreķināti ievietojot 6 standarta kontroles paraugu absorbcijas vērtības (divos eksemplāros) 5 parametru loģistiskajā modelī (5PL).



Diagrammas teksta tulkojums : 5 Parameters Logistic Model - 5 parametru loģistiskais modelis, concentration - koncentrācija

Standartu koncentrācijas aprēķina rezultāti

Standarts, pg/ml	Plate	QuantAssay, pg/ml	Novirze
0	A1	0.00	—
5	B1	4.59	8%
20	C1	18.91	5%
50	D1	46.99	6%
200	E1	193.58	3%
500	F1	478.87	4%
0	A2	0.07	—
5	B2	5.34	7%
20	C2	21.08	5%
50	D2	53.05	6%
200	E2	206.43	3%
500	F2	521.30	4%

Paraugu koncentrācija apreķināta programmatūrā GEM5, pg / ml

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.00	0.00	6.03	7.43	0.00	0.00	2.53	1.34	3.48	1.94	0.00	0.00
B	3.48	4.77	1.13	1.13	0.25	0.00	0.48	2.53	0.00	0.00	0.00	2.34
C	20.47	22.06	0.00	0.00	4.40	4.77	2.72	1.94	0.00	0.00	0.25	1.13
D	50.19	54.66	0.00	0.00	3.48	4.04	0.00	0.00	0.25	1.34	0.00	0.25
E	191.97	204.66	1.54	1.34	3.67	3.67	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
F	480.56	519.44	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
G	152.87	162.21	1.34	1.94	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
H	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Paraugu koncentrācija apreķināta programmatūrā, QuantAssay, pg/ml

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.00	0.07	7.35	8.19	2.07	1.43	4.86	3.53	4.61	2.83	1.34	1.08
B	4.59	5.34	3.33	3.09	3.57	2.55	3.45	3.59	0.00	0.00	0.77	0.81
C	18.91	21.08	0.00	0.70	6.31	5.93	8.70	3.99	1.47	0.75	1.45	1.86
D	46.99	53.05	1.29	0.64	4.61	7.06	2.35	2.77	2.10	2.07	0.83	1.06
E	193.58	206.43	3.65	3.92	5.23	5.46	2.51	1.20	0.93	0.99	0.22	2.45
F	478.87	521.30	1.47	2.36	2.07	1.59	1.00	0.02	0.53	0.00	0.00	0.67
G	150.55	162.32	2.94	2.90	0.09	0.35	0.00	0.00	0.72	1.19	0.30	0.53
H	4.95	1.51	0.76	0.00	0.80	1.08	0.00	1.30	0.00	0.00	0.50	0.76

Secinājumi

Ierīces jutīgums un dinamiskā amplitūda atbilst specifikācijai.

Elx 800 un HiPo fotometru salīdzinošo pētījumu rezultāti tiešām atbilst.

Ar QuantAssay aprēķinātās koncentrācijas vidējā relatīvā novirze nepārsniedza 3.5%.

QuantAssay programmatūra ir ērta un lietotājam draudzīga.

Analīzes ātrums, jutīguma un linearitātes amplitūda atbilst augstākajiem pasaules ražotāju standartiem.

Pamatojoties uz minēto informāciju, mēs secinām, ka HiPo var rekomendēt kā mērierīci optiskā blīvuma reģistrēšanai imūndiagnostikas un imunoloģsikās metodēs 96-iedobju plakanās pamatnes mikroplates formātā.