

Меткомбі плазма ІФА

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення вільного метанефрину і норметанефрину в плазмі людини

REF RE 59202

 96

   2-8°C

EU: **IVD** **CE** 



I B L I N T E R N A T I O N A L G M B H

Flughafenstrasse 52a
D-22335 Гамбург, Німеччина

Телефон: +49 (0)40-53 28 91-0
Факс: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@IBL-International.com
www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1,
тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

1. ПРИЗНАЧЕНЕ ВИКОРИСТАННЯ

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення вільного метанефрину та норметанефрину в людській плазмі.

2. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ І ПОЯСНЕННЯ

Катехоламіни адреналін, норадреналін та допамін синтезуються в наднирковій мозковій оболонці, симпатичній нервовій системі і в мозку. Вони впливають практично на всі тканини і залучаються разом з іншими гормональними та нейрональними системами при регуляції широкого спектру фізіологічних процесів.

Оскільки катехоламіни та їх метаболіти метанефрин та норметанефрин секретуються у зростаючих кількостях в ряді захворювань, їх можна використовувати для діагностичних цілей.

У цьому контексті діагностика та спостереження за захворюваннями пухлини нервової системи є особливо важливими. Це стосується в першу чергу феохромоцитом, але також нейроblastом і гангліоневроми.

Злоякісне зростання описано у 10% феохромоцитом. Крім того, збільшення катехоламінів і їх метаболітів метанефрину і норметанефрину можуть спостерігатися в карциноїді.

Накопичені дані показують, що метанефрини в плазмі крові є найкращим маркером для діагностики та подальшого спостереження феохромоцитом.

3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Після осадження білка та ацилювання метанефрини вимірюють ІФА.

Ацильовані нор- / метанефрини з зразку та тверді фази, пов'язані з нор- / метанефринами, конкурують за фіксовану кількість сайтів зв'язування антисироватки. Коли система знаходиться в рівновазі, вільний антиген і вільний антигени - антисироватка комплекси видаляють промиванням. Антитіло, пов'язане з твердою фазою, нор- / метанефрин виявляється анти-кролячою IgG / пероксидазою. Кількість антитіла, пов'язаного з твердою фазою катехоламіну, обернено пропорційна концентрації катехоламіну в зразку.

4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАХОДИ

1. Для діагностичного використання in-vitro тільки. Тільки для професійного використання.
2. Перед початком аналізу прочитайте інструкцію повністю та уважно. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладену в набір. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
3. У випадку серйозного пошкодження пакета набору, будь ласка, зв'яжіться з IBL або постачальником у письмовій формі, не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти під час тестування, але зберігання безпечно для вирішення питань, пов'язаних із скаргою.
4. Перевірте номер лоту та термін придатності. Не змішувати реактиви різних партій. Не використовуйте реактиви з вичерпаним терміном придатності.
5. Дотримуйтесь належної лабораторної практики та правил техніки безпеки. Одягайте латексні рукавички, одноразові латексні рукавички та захисні окуляри, де це необхідно.
6. Реактиви цього набору, що містить небезпечний матеріал, можуть спричинити подразнення очей та шкіри. Дивіться МАТЕРІАЛИ, що постачаються та етикетки для деталей. Паспорти безпеки матеріалів для цього продукту доступні на IBLHomepage або за запитом безпосередньо від IBL.
7. Хімікати та підготовлені або використані реактиви повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національного законодавства щодо біологічно небезпечних речовин та правил техніки безпеки.
8. Персонал прибиральників повинен керуватися професійними пам'ятками щодо потенційних небезпек і поводження.
9. Уникайте контакту з Стоп розчином. Це може викликати подразнення шкіри та опіки.
10. Всі реактиви цього комплекту, що містять людську сироватку або плазму, були протестовані та були визнані негативними для Анти-BIL I / II, HBsAg і анти-HCV. Проте наявність цих чи інших інфекційних агентів не може бути виключена абсолютно. З цієї причини реактиви слід розглядати як потенційно біологічно небезпечні у використанні та для утилізації.

5. ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ

Комплект постачається при температурі навколишнього середовища і повинен зберігатись при 2-8 ° С. Тримайте подалі від нагрівання або прямого сонячного світла. Зберігання та стабільність зразків та підготовлених реагентів зазначено у відповідних главах. Стріпи мікропланшета стабільні до зазначеного закінчення терміну придатності після розкриття набору. Переконайтеся, що розкритий пакет щільно закритий та зберігається при температурі 2-8 ° С.



Зберігання:	2-8 °	≤ 20 ° С (аліквотовані)	≤ 70 ° С (аліквотовані)	Тримайте подалі від нагрівання або прямих сонячних променів. Уникайте повторних циклів заморожування-розмороження. Транспортувати зразки замороженими.
Стабільність :	24 години	3 місяці	1 рік	

7. МАТЕРІАЛИ, ЩО ПОСТАЧАЮТЬСЯ

	Реагенти, забезпечені цим набором, достатні для 96 екстракцій за одиничним визначенням у підготовці зразка (екстракції): 88 зразків пацієнтів, 6 стандартів та 2 контролю.
	Дублікати для визначення метанефрину та норметанефрину рекомендуються з подвійним ацилюванням, достатньо для 40 зразків пацієнта, 6 стандартів та 2 контролю. Додаткові реагенти доступні по запиті.

Кількість	позначення	компонент
1x12x8	MTP MN	Мікропланшет Метанефрин, (синій), розборні стріпи. Покритий з : Метанефрин
1x12x8	MTP NMN	Мікропланшет Норметанефрин, (жовтий) Розбірні стріпи. Покрито: Норметанефрином.
2x1,5 мл	CAL A-LYO	Стандарт А, ліофілізований 0 пг/мл, містить людську плазму
1x5x1,5 мл	CAL B-F LYO	Стандарт B-F, ліофілізований Точні концентрації див. на етикетках на флаконах або сертифікаті якості. Містить: плазму людини

1x2x1,5 мл	CONTROL 1+2 LYO	Контроль 1 + 2, ліофілізований Концентрації / допустимі діапазони див. сертифікат якості. Містить: людську плазму.
1x2x3,5мл	PREC REAG 1+2	Осаджуючий реагент 1 + 2 Готовий до використання.
3x2.5 мл	ACYLREAG LYO	Реагент для ацилювання . Ліофілізований
1x450 мл	ANTISERUM MN CONC	Концентрат метанефрину анти сироватка (10x) Синього кольору. Містить: Антисироватка (кролик).
1x4мл	ANTISERUM NMN	Норметанефрин антисироватка Готовий до використання. Жовтий колір Містить: Антисироватка (кролик).
2x13мл	ENZCONJ	Ферментний кон'югат Готовий до використання. Містить : кон'югат проти кролика IgG POD.
2x5,5 мл	SOLVENT	Розчинник Готовий до використання. Містить: ацетон
1x6 мл	ACYL BUF	Буфер для ацилювання Готовий до використання. Містить: буфер Tris-HCl-буфер.
1x100 мл	PREC TUBES	Осаджуючі пробірки
2 x 20 мл	WASHBUF CONC	Промивний буфер концентрат (50x)
2x13 мл	TMB SUBS	Розчин субстрату ТМБ Готовий до використання. Містить: 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин, H ₂ O ₂ .
2x13мл	TMB STOP	Стоп розчин Готовий до використання. Містить 0,3М H ₂ SO ₄
4x	фольга	Клейка фольга

8. МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ, АЛЕ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1. Мікропіпетки (Multipette Eppendorf або подібні пристрої, <3% CV).
Обсяг: 20,25,50,100 та 200 мкл
2. Процесорний процесор Dynex DSX та DSX (автоматизована версія).
3. Центрифуга; ≥ 4000 x р
4. Орбітальний шейкер (400-600 об / хв)
5. Вихровий міксер
6. Роліковий міксер
7. 8-канальна мікропіпетка з резервуарами реагенту
8. Промивна пляшка, автоматизована або напівавтоматизована система миття мікропланшетів
9. Рідер мікропланшетів, здатний зчитувати поглинання при 450 нм (опорна довжина хвилі 600-650 нм)
10. Бідистильована або дейонізована вода
11. Паперові рушники, наконечники для піпеток та таймер

9. ПРОЦЕДУРА ПРИМІТКИ

1. Будь-яке неправильне поводження із зразками або модифікація процедури випробувань може вплинути на результати. Вказані обсяги піпетування, періоди інкубації, температури та етапи попередньої обробки повинні виконуватися суворо відповідно до інструкцій. Використовуйте лише калібровані піпетки та прилади.
2. Як тільки тест буде розпочато, всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої приготовлені в належний час. Дозвольте всім реагентам та

зразкам досягати кімнатної температури (18-25 ° C) і обережно прокрутити кожен ампулу рідкого реагенту та зразок перед використанням. Змішувати реагенти без піноутворення.

3. Уникайте забруднення реагентів, піпеток і лунок / пробірок Використовуйте нові одноразові наконечники для піпетки для кожного компонента та зразка. Не обмінюйте ковпачки. Завжди закривайте флакони, що не використовуються.. Не використовуйте повторно лунки / пробірки або реагенти.

4. Рекомендується визначити зразки в двох примірниках, щоб мати змогу виявити потенційні помилки в піпетуванні.

5 Використовуйте схему піпетування для перевірки відповідного макета пластини. Схема піпетування, яка охоплює обидві обробки зразка та аналіз , доступна на IBL-Homepage.

6. Час інкубації впливає на результати. Всі лунки повинні оброблятися в однаковій послідовності порядку та часу. Рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку для піпетування розчину в усі лунки.

7. Промивка мікропланшету є важливою. Неправильно промиті лунки дадуть помилкові результати. Рекомендується використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну систему промивки мікропланшетів. Не дозволяйте лункам висихати між інкубаціями. Не подряпайте покриті лунки під час промивання та аспірації. Промийте і заповніть всі реагенти з обережністю. Під час промивання перевірте, чи всі лунки рівномірно наповнені промивним буфером, і немає залишків у лунках.


8. Вологість впливає на покриті лунки / пробірки. Не відкривайте пакет, поки він не досягне кімнатної температури. Призначені лунки / пробірки повинні бути негайно повернені до закритого пакету, включаючи осушувач.

10. РУЧНА ПРОЦЕДУРА

10.1. ПРЕДТЕСТОВА ІНСТРУКЦІЯ З УСТАНОВКИ



Цей імуноферментний аналіз оцінюється для ручного використання та, особливо, для автоматизованого використання з Dynex DSX ІФА - процесор для визначення метанефрину та норметанефрину в плазмі.

Тому посібник містить різні робочі процедури



	вміст набору для 96 визначень можна розділити на 3 окремі прогони Викладені нижче обсяги є для одного прогону з 2 x 6 смугами (2 x 48 визначення) Метанефрин і норметанефрин.
---	---

10.1. Приготування ліофілізованих або концентрованих компонентів.

Розвести/ розчинити	компонент	з	розчинник	прим	зберігат и	стабільність
6 флаконів мл	CAL A-F	1,5 мл	Бідистильов ана вода	Прокрутіть усі флакони і перемішайте 20 хв на роліковому міксері.	-20 °С (Аліквоти)	до терміну придатності Уникайте повторних циклів заморожування- відтавання
2 флакони	CONTROL 1+2					
20 мл	WASHBUF	Додат и 1000 мл	Бідистильов ана вода	Співвідношен ня: 1:50 Нагрійте при 37 °С до розчинення кристалів, якщо це необхідно	2-8°С	4 тижні
200 мкл	ANTISERU M MN	1800 мкл	Бідистильов ана вода	Співвідношен ня 1:10 змішати обережно	18-25°С	1 день

	Ацилюючий реагент: готуйте свіжо та використовуйте лише один раз					
	Зверніть увагу, що розчинник реагує з багатьма пластичними матеріалами, включаючи пластикові лотки; розчинник не реагує із звичайними наконечниками піпеток та пристроями зі скла. Розчинник є летучим і розчинним реагентом для ацилювання і випаровується швидко. Тому, будь ласка, не використовуйте лоток з великою поверхнею разом із багатоканальною піпеткою для піпетування ацилюючого реагенту.					
Розчинити/ розвести	компонент	з	розчинник	примітки	зберігання	стабільність
1 флакон	ACYL REAG	2,5 мл	SOLVENT	Змішати 15 хв в роліковому міксері	18-25°С	3 години

10.2. Осадження та ацилювання в пробірках для осадження

	Зверніть увагу для автоматичної обробки: для підготовки до автоматизованої версії піпетувати 200 мкл стандартів та контролів в 1,8 мл пробірки DSX. Використовуйте пробірки для осадження, що входять до наборів, лише для зразків.
	Розведення зразків: Зразки, які підозрюють, що містять концентрації, що перевищують найвищу норму, повинні бути розведені перед етапом осаджування зі стандартом А.
1	Позначте осаджуючі пробірки та піпетуйте по 200 мкл кожного стандарту, контролю та зразка у відповідні пробірки
2	Піпетувати в кожен пробірку 25 мкл осаджуючого реагенту 1.
3	Піпетуйте 25 мкл осаджуючого реагенту 2 в кожен пробірку та змішайте (5 - 10 сек.).
4	Центрифугуйте пробірки для осаджування протягом 15 хв $\geq 4000 \times g$.
5	Піпетуйте 50 мкл буфера для ацилювання в кожен пробірку


6	Скоріше скористайтеся мультипіпеткою Еппендорф (або подібним пристроєм), наповніть шприц безпосередньо з флакона з розчинним реагентом для ацилювання і додайте од лунки до лунки.
7	В кожну пробірку піпетуйте 40 мкл свіжоприготованого реагенту для ацилювання. Прокрутіть кожну пробірку (вихровий міксер) одразу після піпетування (2 - 4 сек.) Ресуспендування гранул не потрібно
8	Центрифугуйте пробірки для осадження протягом 15 хв $\geq 4000 \times g$.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ




11.1. Коротка версія ручної процедури

11.1.1. Метанефрин (блакитний мікропланшет), ручна процедура, коротка версія

1	Піпетуйте 50 мкл кожного ацильованого стандарту, контролю та зразка пацієнта у відповідні лунки мікропланшета. Не накривайте планшет.
2	Інкубуйте 60 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
3	Піпетувати в кожну лунку 25 мкл розведеного антигену метанефрину. Зміна кольору на синій.
4	Накрийте пластину клейкою фольгою. Інкубуйте 120 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
5	Зняти клейку фольгу. Відмовтеся від інкубаційного розчину. Промийте мікропланшет 4 х з 300 мкл розведеного промивного буфера. Видаліть зайвий розчин, натиснувши перевернутим планшетом на паперовий рушник
6	Піпетувати в кожну лунку 100 мкл ферментного кон'югату . Накрийте планшет клейкою фольгою.
7	Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
8	Зняти клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте планшет 4 х з 300 мкл розведеного Буфера промивання. Видаліть надлишки розчину, натиснувши перевернутою пластиною на паперовий рушник.
9	Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо є, 8-канальну мікропіпетку. Піпетування слід проводити в однакові проміжки часу для субстрату та стоп розчину
10	В кожну лунку піпетуйте 100 мкл розчину субстрату ТМБ.
11	Інкубуйте 25-35 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
12	 Реакція субстрату залежить від часу і температури. Тримайте подалі від тепла чи прямих сонячних променів
13	Зупиніть реакцію субстрату, додавши 100 мкл стоп-розчину ТМБ в кожну лунку. Коротко перемішайте вміст, обережно струшуючи тарілку. Зміна кольору від синього до жовтого.
14	Виміряйте оптичну густина за допомогою фотометра при 450 нм (референтна довжина хвилі: 600-650 нм) в межах 15 хв після піпетування стоп-розчину.

11.1.2. Норметанефрин (жовтий мікропланшет) ручна процедура коротка версія

1	Піпетуйте 50 мкл кожного ацильованого стандарту, контролю та зразка пацієнта у відповідні лунки мікропланшета. Не накривайте планшет.
2	Інкубуйте 60 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
3	Піпетувати в кожну лунку 25 мкл розведеної анти сироватки норметанефрину. Зміна кольору на помаранчовий.
4	Накрійте пластину клейкою фольгою. Інкубуйте 120 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
5	Зняти клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте мікропланшет 4 х з з 300 мкл розведеного промивного буфера. Видаліть зайвий розчин, натиснувши перевернутим планшетом на паперовий рушник
6	Піпетувати в кожну лунку 100 мкл ферментного кон'югату . Накрійте планшет клейкою фольгою.
7	Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
8	Зняти клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте планшет 4 х з 300 мкл розведеного Буфера промивання. Видаліть надлишки розчину, натиснувши перевернутою пластиною на паперовий рушник.
9	Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо є, 8-канальну мікропіпетку. Піпетування слід проводити в однакові проміжки часу для субстрату та стоп розчину
10	В кожну лунку піпетуйте 100 мкл розчину субстрату ТМБ.
11	Інкубуйте 25-35 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
12	 Реакція субстрату залежить від часу і температури. Тримайте подалі від тепла чи прямих сонячних променів
13	Зупиніть реакцію субстрату, додавши 100 мкл стоп-розчину ТМБ в кожну лунку. Коротко перемішайте вміст, обережно струшуючи тарілку. Зміна кольору від синього до жовтого.
14	Виміряйте оптичну густину за допомогою фотометра при 450 нм (референтна довжина хвилі: 600-650 нм) в межах 15 хв після піпетування стоп-розчину.

11.2. Альтернативна версія з інкубацією протягом ночі


11.2.1. Перший день: ручна процедура метанефрину (синій мікропланшет)

1	Піпетуйте 50 мкл кожного ацильованого зразка стандарту, контролю та пацієнта у відповідні лунки мікропланшета. Не накривайте планшет
2	Інкубуйте 60 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
3	Накрійте пластину клейкою фольгою. Інкубують протягом ночі (12-20 год) при 2-8 ° С.

11.2.2. Перший день: ручна процедура Норметанефрин (жовтий мікропланшет)


1	Піпетуйте 50 мкл кожного ацильованого зразка стандарту, контролю та пацієнта у відповідні лунки мікропланшета. Не накривайте планшет.
2	Інкубуйте 60 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв)
3	Накрійте планшет клейкою фольгою. Інкубують протягом ночі (12-20 год) при 2-8 ° С

11.2.3. Другий день: ручна процедура метанефрину (синій мікропланшет)

1	Зняти клейку фольгу. Піпетувати в кожну лунку 25 мкл розведеної антисироватки метанефрину. Зміна кольору на синій.
2	Накрійте планшет клейкою фольгою. Інкубуйте 120 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
3	Зняти клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте планшет 4 x 300 мкл розведеного промивного буфера. Видаліть зайвий розчин, натиснувши перевернутим планшетом на паперовий рушник.
4	Піпетувати в кожну лунку 100 мкл кон'югату ферменту. Накрійте пластину клейкою фольгою.
5	Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв)
6	Зняти клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промити планшет 4 x з 300 мкл розведеного промивного Буфера. Видаліть зайвий розчин, натиснувши перевернутим планшетом на паперовий рушник.
7	Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо є, 8-канальну мікропіпетку. Піпетування слід проводити в однакові проміжки часу для субстрату та стоп розчину.
8	В кожну лунку піпетуйте 100 мкл розчину субстрату ТМБ
9	Інкубуйте 25-35 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв)
10	 Реакція субстрату залежить від часу і температури. Тримайте подалі від тепла чи прямих сонячних променів.
11	Зупиніть реакцію субстрату, додавши 100 мкл стоп-розчину ТМБ в кожну лунку. Коротко перемішайте вміст, обережно струшуючи планшет. Зміна кольору від синього до жовтого
12	Виміряйте оптичну густину за допомогою фотометра при 450 нм (Довжина хвилі: 600-650 нм) в межах 15 хв після піпетування стоп-розчину

11.2.4. Другий день: ручна процедура норметанефрину (жовтий мікропланшет)

1	Зняти клейку фольгу. Піпетувати в кожну лунку 25 мкл розведеної антисироватки норметанефрину. Зміна кольору на помаранчовий.
2	Накрійте планшет клейкою фольгою. Інкубуйте 120 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
3	Зняти клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте планшет 4 x 300 мкл розведеного промивного буфера. Видаліть зайвий розчин, натиснувши перевернутим планшетом на паперовий рушник.
4	Піпетувати в кожну лунку 100 мкл кон'югату ферменту. Накрійте пластину клейкою фольгою.
5	Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв)
6	Зняти клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промити планшет 4 x з 300 мкл розведеного промивного Буфера. Видаліть зайвий розчин, натиснувши перевернутим планшетом на паперовий рушник.
7	Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо є, 8-канальну

	мікропіпетку. Піпетування слід проводити в однакові проміжки часу для субстрату та стоп розчину.
8	В кожну лунку піпетуйте 100 мкл розчину субстрату ТМБ
9	Інкубуйте 35-45 хв при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв)
10	
11	Зупиніть реакцію субстрату, додавши 100 мкл стоп-розчину ТМБ в кожну лунку. Коротко перемішайте вміст, обережно струшуючи планшет. Зміна кольору від синього до жовтого
12	Виміряйте оптичну густину за допомогою фотометра при 450 нм (Довжина хвилі: 600-650 нм) в межах 15 хв після піпетування стоп-розчину

11.3. Автоматизована процедура

11.3.1. Автоматизована процедура Метанефрин (синій мікропланшет)

1	Піпетують по 50 мкл кожного ацильованого стандарту, контролю і зразку у відповідні лунки мікропланшету.
2	Інкубуйте 3 хвилини (максимум 5 хвилин) при 30 ° С на орбітальному шейкері (середня швидкість струшування)
3	Інкубуйте 60 хвилин (максимум 70 хвилин) при КТ (кімнатній температурі).
4	Піпетувати в кожну лунку 25 мкл розведеної антисироватки метанефрину.
5	Інкубуйте 120 хвилин (максимум 130 хвилин) при КТ на орбітальному шейкері (середня швидкість струшування).
6	Промийте планшет 5 разів з 300 мкл розведеного прального буфера. Аспіруйте зайвий розчин
7	Піпетувати в кожну лунку 100 мкл кон'югату ферменту.
8	Інкубуйте 30 хвилин (максимум 32 хвилини) при КТ на орбітальному шейкері (середня швидкість струшування).
9	Промити планшет 5 разів 300 мкл розведеного прального буфера. Аспіруйте зайвий розчин.
10	В кожну лунку відкачайте 100 мкл розчину субстрату ТМБ.
11	Інкубуйте 20 хвилин (максимум 25 хвилин) при КТ на орбітальному шейкері (середня швидкість струшування).
12	Піпетуйте 100 мкл стоп-розчину ТМБ в кожну лунку.
13	Виміряйте оптичну густину при 450 нм (Довжина довжини хвилі: 620 нм)

11.3.2. Автоматизована процедура Норметанефрин (жовтий мікропланшет)

1	Піпетують по 50 мкл кожного ацильованого стандарту, контролю і зразку у відповідні лунки мікропланшету.
2	Інкубуйте 3 хвилини (максимум 5 хвилин) при 30 ° С на орбітальному шейкері (середня швидкість струшування)
3	Інкубуйте 60 хвилин (максимум 70 хвилин) при КТ (кімнатній температурі).
4	Піпетувати в кожну лунку 25 мкл розведеної анти сироватки норметанефрину.
5	Інкубуйте 120 хвилин (максимум 130 хвилин) при КТ на орбітальному шейкері (середня швидкість струшування).
6	Промийте планшет 5 разів з 300 мкл розведеного прального буфера. Аспіруйте зайвий розчин
7	Піпетувати в кожну лунку 100 мкл кон'югату ферменту.
8	Інкубуйте 30 хвилин (максимум 32 хвилини) при КТ на орбітальному шейкері (середня швидкість струшування).
9	Промити планшет 5 разів 300 мкл розведеного прального буфера. Аспіруйте зайвий розчин.
10	В кожну лунку відкачайте 100 мкл розчину субстрату ТМБ.
11	Інкубуйте 20 хвилин (максимум 25 хвилин) при КТ на орбітальному шейкері (середня швидкість струшування).
12	Піпетуйте 100 мкл стоп-розчину ТМБ в кожну лунку.
13	Виміряйте оптичну густину при 450 нм (Довжина довжини хвилі: 620 нм)

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати випробувань є дійсними лише тоді, коли тест було виконано відповідно до інструкцій. Крім того, усі користувачі суворо дотримуються правил НЛП (Належної лабораторної практики) або порівнянних стандартів / законів. Користувач та / або лабораторія повинні мати перевірену систему для отримання діагнозу відповідно до НЛП. Всі контролю повинні бути знайдені в межах прийнятної діапазону, як зазначено на етикетках та сертифікаті якості. Якщо критерії не виконуються, пробіг недійсний, і його слід повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки в якості додаткового контролю. Рекомендуються взяти участь у відповідній оцінці якості випробувань. В разі будь-яких відхилень наступні технічні питання повинні бути доведені: дати закінчення терміну дії (отриманих) реагентів, умови зберігання, піпетки, прилади, умови інкубування і методи промивки.

13. Обчислення результатів

Отримані ОГ стандартів (по осі Y, лінійна) наносяться проти їх концентрації (вісь x, логарифмічна) або на полу-логарифмічному графічному папері або за допомогою автоматизованого методу. Гарна відповідність забезпечується cubic spline, 4 Logisites Параметр або логіт -Log. Для розрахунку стандартної кривої, застосовують кожен сигнал стандартів (в разі явних відхилень даних одного з двох повторів від очікуваного допустимо використовувати більш акуратне значення). Концентрація зразків може бути зчитана безпосередньо з відповідної стандартної кривої.

У разі розведених зразків значення необхідно помножити на відповідний коефіцієнт розведення

Конверсія :

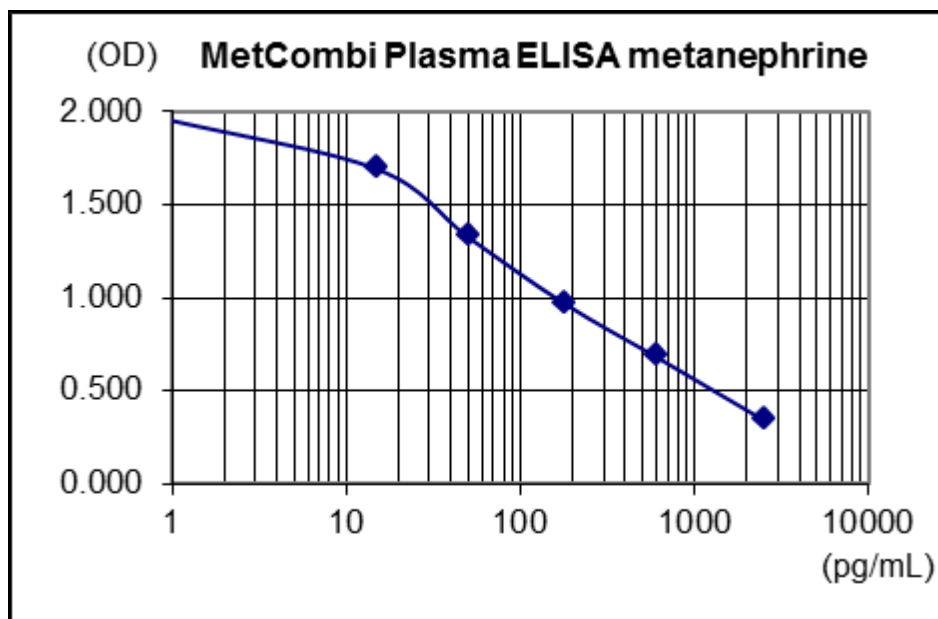
Метанефрин (пг / мл) x 5,07 = пмоль / л

Норметанефрин (пг / мл) x 5,46 = пмоль / л

Типова калібрувальна крива

(Приклад. не слід використовувати для розрахунку!)

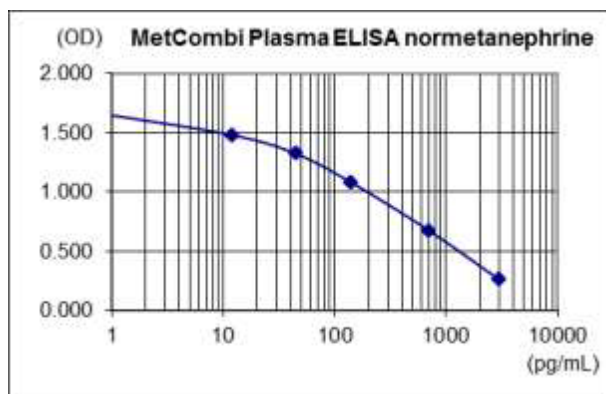
стандарт	Адреналін (нг/мл)	ОГ (середня)
A	0	1,724
B	15	1,475
C	50	1,284
D	180	0,947
E	600	0,602
F	2500	0,288



Типова калібрувальна крива

(Приклад. не слід використовувати для розрахунку!)

стандарт	Пг/мл	ОГ (середня)
A	0	1,654
B	12	1,481
C	45	1,322
D	140	1,081
E	700	0,674
F	3000	0,258



14. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Самі по собі результати не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Вони повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями і діагностичними тестами

Очевидно здорові суб'єкти показують наступне значення:	Плазма		Рекомендується кожній лабораторії встановлювати власний діапазон нормальних значень
	(пг/мл)	(нмоль/л)	
	метанефрин	< 90	
норметанефрин	< 190	< 1.037	

15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Збір зразків і зберігання істотно впливають на результати випробувань . Див ЗРАЗКИ ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ для деталей. Для перехресних реакцій, див. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

16.ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ









Аналітична специфічність (перехресна реактивність)	Речовина	Перехресна реактивність (%)		Перехресна реактивність інших субстанцій проаналізованих < 0.001 %	
	метанефрин	адреналін	норадреналін		
	норметанефрин	100	0,015		
	3-метокситерамін	0,130	100		
	адреналін	0,003	0,076		
	норадреналін	0,039	0,0003		
	тирамін	0,0008	0,0030		
	допамін	0,0005	0,0043		
	Гомованілова кислота	<0.0001	<0.0001		
	Ванільно-миндальна кислота	<0.0001	<0.0001		
	L- допа	<0.0001	<0.0001		
	L- тирозин	<0.0001	<0.0001		
Аналітична чутливість (ліміт визначення)	метанефрин	7 пг/мл	Середній сигнал (стандарт 0)-2SD		
	норметанефрин	7 пг/мл			
точність		Діапазон (пг/мл)	CV (%)		
	В аналізі	метанефрин	157-403	7,9-7,8	
норметанефрин		193-757	8,4-4,1		
Між аналізами	метанефрин	118-276	8,8-8,6		
	норметанефрин	246-551	9,3-9,2		
Линійність		Діапазон (пг/мл)	Серійне розведення до	Середнє (%)	Діапазон (%)
	метанефрин	43-886	1:20	103	96-112
	норметанефрин	70-1613	1:20	93	86-10
Відновлення після збагачення		Діапазон (пг/мл)	Серійне розведення до	Діапазон (%)	
	метанефрин	20-900	94	82-117	

	норметанефрин	34-1633	96	90-108
Метод порівняння з LC/MS	метанефрин	IBL-ELISA = 1.04 x [LC/MS] - 23		r = 0.990 ; n = 32
	норметанефрин	IBL-ELISA = 0.99 x [LC/MS] - 8		r = 0.984 ; n = 32
Порівняння методів За ніч проти короткої версії	метанефрин	Коротка версія = 1.089 x - 2.054		r = 0.993 ; n = 138
	норметанефрин	Коротка версія = 0.926x +11.78		r = 0.978 ; n = 138

17. ЛІТЕРАТУРА

1. Vogelgesang A, May V, Grunwald U, Bakkeboe M, Langner S, Wallaschofski H, Kessler Ch, Bröker B, Dressel A Functional status of peripheral blood T-cells in ischemic stroke patients. PLOSone, January 2010, Volume 5, Issue 1 e8718.
2. Lenz T, Zorner J, Kirchmaier C, Pillitteri D, Badenhop K, Bartel C, Geiger H, Hasselbacher K, Tuschy U, Westermann J, Salewski L: Multicenter Study on the Diagnostic Value of a New RIA for the Detection of Free Plasma Metanephrines in the Work-Up for Pheochromocytoma. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1073: 358-373 (2006)
3. Unger, N.; Pitt, C. (2006); Petersenn, S.; et al.: Diagnostic value of various biochemical parameters for the diagnosis of pheochromocytoma in patients with adrenal mass European Journal of Endocrinology 154 409–417
4. Eisenhofer, G.; Walther, M.; Keiser, H.; et al. (2004): Plasma metanephrines: a novel and costeffective test for pheochromocytoma Brazilian Journal of Medical and Biological Research 33: 1157-1169 (2000)
5. Bravo, E.: Pheochromocytoma: Current Perspectives in the Pathogenesis, Diagnosis, and Management Arq Bras Endocrinol Metab 48/5:746-750
6. Candito, M.; Billaud, E.; Chauffert, M.; et al. (2002): Biochemical diagnosis of pheochromocytoma and neuroblastomas Ann Biol Clin (Paris). 2002 Jan-Feb;60(1):15-36.
7. Lenders, J.; Pacak, K.; McClellan, M.; et al. (2002): Biochemical Diagnosis of Pheochromocytoma Which Test Is Best? Jama, March 20, 2002-Vol 287, No. 11
8. Eisenhofer, G.; Keiser, H.; Friberg, P.; et al. (1998): Plasma Metanephrines Are Markers of Pheochromocytoma Produced by Catechol-O-Methyltransferase Within Tumors Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism Vol. 83, No. 6
9. Lenders, J.; Keiser, H.; Goldstein, D.; et al. (1995): Plasma Metanephrines in the Diagnosis of Pheochromocytoma Annals of Internal Medicine Volume 123 • Number 2


УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред'явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.

ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОВОГО (-ИХ) НАБОРУ (ІВ) . ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург, Німеччина	Тел .: + 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11 E-MAIL: IBL@IBL-International.com WEB: http://www.IBL-International.com
--	--	---

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua