Українська

Інструкція з використання

Адреналін ІФА

Ручний та автоматичний імуноферментний аналіз для in-vitro-діагностики, кількісне визначення адреналіну в плазмі та сечі людини.

REF RE59251

Σ 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

Ручний та автоматизований імуноферментний аналіз для діагностичного кількісного визначення in vitro адреналіну у плазмі та сечі людини.

2.ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ І ПОЯСНЕННЯ

Катехоламіни адреналін, норадреналін і допамін синтезуються в мозковій речовині наднирника, симпатичній нервовій системі і в мозку. Вони впливають практично на всі тканини і залучаються разом з іншими гормональними та нейрональними системами при регуляції різноманітних фізіологічних процесів.
Оскільки катехоламіни та їх метаболіти метанефрин та норметанефрин секретуються у зростаючій кількості в ряді захворювань, їх можна використовувати для діагностичних цілей.
У цьому контексті особливо важливою є діагностика та подальша діяльність пухлинних захворювань нервової системи . Це стосується в першу чергу феохромоцитоми, але також нейробластоми і гангліоневроми.
Через етап вилучення на початку аналізу клієнт може використовувати всі види тваринного матеріалу. Він працює для щурів, мишей та інших. Хімічна структура катехоламінів ідентична у всіх тварин.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА) на основі сендвіч-принципу. Лунки покриті козячим кроликовим антитілом. Додане рідке антитіло, спрямоване на епітоп антигену молекули зв'язується з пластиною протягом інкубаційного часу. Антиген зразка інкубується в покритих лунках з кон'югованим ферментом другим антитілом (E-Ab), спрямованим до іншої області антигену молекули. Після реакції субстрату інтенсивність розробленого кольору пропорційна кількості антигену. Результати вибірки можна визначити безпосередньо за допомогою стандартної кривої.

4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

1. Тільки для використання діагностики in-vitro. Тільки для професійного використання.
2. Перед початком аналізу уважно прочитайте інструкції. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладену в упаковку набору. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
3. У випадку серйозного пошкодження упаковки набора звертайтесь до IBL або вашого постачальника у письмовій формі, не пізніше, ніж через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти під час аналізу, але зберігання їх безпечно для вирішення питань, пов'язаних з скаргою.
4. Перевірте номер та дату закінчення терміну придатності. Не змішувати реактиви різних партій. Не використовуйте реагенти поза терміном придатності.
5. Дотримуйтесь належної лабораторної практики та правил техніки безпеки. Носити латексні рукавички, одноразові латексні рукавички та захисні окуляри, де це необхідно.
6. Реагенти цього набору, що містять шкідливий матеріал, можуть спричинити подразнення очей та шкіри. Дивіться МАТЕРІАЛИ НАДАНІ та мітки для деталей. Паспорти безпеки матеріалів для цього продукту доступні на IBLHomepage або за запитом безпосередньо від IBL.
7. Хімікати та підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національного законодавства щодо біологічної небезпеки та правил техніки безпеки.
8. Персонал прибиральників повинен керуватися фаховими керівництвами щодо потенційних небезпек і поводження.
9. Уникайте контакту з стоп розчином. Це може викликати подразнення шкіри та опіки.
10. Всі реактиви цього набору, що містять людську сироватку або плазму, були протестовані та були визнані негативними для анти-ВІЛ I / II, HBsAg і анти-HCV. Проте наявність цих чи інших інфекційних агентів не може бути виключено абсолютно З цієї причини реагенти слід розглядати як потенційні біологічно небезпечні у використанні та для утилізації.

5. ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір постачається при температурі навколишнього середовища та зберігається при 2-8 ° C. Тримайте подалі від нагрівання або прямого сонячного світла. Зберігання та стійкість зразків та підготовлених реагентів вказано у відповідних головах.
Стріпи мікропланшету стабільні до зазначеного терміну придатності після розкриття набору. Переконайтеся, що відкритий пакет щільно закритий і зберігається при умовах при 2-8 ° C.

- метилдопа, інгібітори МАО та COMT, а також ліки, пов'язані з гіпертензією, слід припинити, принаймні, протягом 72 годин до початку забору зразків.

Зберігання	2-8 ° C	≤ -20 ° C (аліквоти)	Тримайте подалі від нагрівання або прямих сонячних променів. Уникайте повторних циклів заморожування-розмороження
Стабільність	6 годин	1 місяць	

Уріна

Можна використовувати як спонтанну, так і 24 годинну сечу. Загальний об'єм сечі, що виділяється протягом 24 год, слід збирати та змішувати в одній пляшці, що містить 10-15 мл 6 N HCl як консервант. Визначте загальний об'єм для розрахунку результатів. Змішати та центрифугувати зразки перед використанням у аналізі.

Зберігання	≤ -20 ° C (аліквоти)	Тримайте подалі від нагрівання або прямих сонячних променів. Уникайте повторних циклів заморожування-розмороження
Стабільність	6 місяців	

МАТЕРІАЛИ надані

кількість	**символ**	**компонент**
1 x 12x8	**MTP**	MTP мікропланшет. Розбірні стріпи. Покритий анти-кролячим IgG (козячий, поліклональний)
1x6x2,5 мл	**CAL A-F**	Стандарт А- Адреналін : 0; 1,5; 5,0; 15; 50; 150 нг / мл (0; 8; 27; 82; 273; 819 нмоль / л) Норадреналін: 0; 5,0; 15; 50; 150; 500 нг / мл (0; 30; 89; 296; 887; 2955 нмоль / л) Допамін: 0; 60; 180; 585; 2300; 11470 нг / мл (0; 392; 1175; 3819; 15014; 74876 нмоль / л) Готовий до використання. Містить: [-] Адреналін, [-] Норадреналін, [-] Допамін (біологічно активний), і 0,1 M HCl
1x2x2,5 мл	**CONTROL 1+2**	**Контроль 1+2** Готовий до використовувати. Містить: [-] адреналін, [-] норадреналін, [-] дофамін (біологічно активний), 0,1 M HCl. Точні концентрації містять флакони або сертифікат QC.
1x400 мкл	**ENZCONJ CONC**	Концентрат кон'югату ферменту (50x) Містить: стрептавідину лужну фосфатазу, тріс буфер, HCl, 0,01% NaN3

2 x	**EXTRPLATE**	екстракційний планшет (макропланшет) по 24 лунки кожен. Покритий боронат спорідненим гелем
1x60 мл	**EXTRBUF**	Буфер екстракції. Рожевого кольору. Готовий до використання. Містить: 0.016% NaN3
2x1,25 мл	**COMT LYO**	**COMT ліофілізований** Містить: Катехол-О-метилтрансфераза (свиняча печінка), NaN3.
2x1,25 мл	**COENZ**	**Розчин коферменту.** Готовий до використання. Містить: S-*аденозил-L-метіонін, стабілізатори*
1x3мл	**ENZBUF**	**Буфер ферменту**, готовий для використання. Містить: Трис буфер, HCl, стабілізатори
2x13 мл	**RELEASEBUF**	**Буфер вивільнення**, жовтого кольору. Готовий до використання. Містить: 0,1 M HCl, індикатор
1x3мл	**ACYLREAG**	**Реагент для ацилювання**, готовий до використання. Містить: диметилформамід, етанол. Обережно! Токсичний Надзвичайно легкозаймистий
1x100 мл	**WASHBUF CONC**	**Промивний буфер** концентрат (10x) Містить: тріс - буфер, HCl, Tween, 0,2% NaN3
1x2мл	**COMT ADD**	**COMT добавка** Містить: людська плазма, стабілізатори, 0,01% тимеросал.
1x8мл	**ANTISERUM AD**	**Адреналіну антисироватка** Зеленого кольору. Готовий до використання. Містить: антитіла проти адреналіну (кролика), буфер, стабілізатори
1x25 мл	**PNPP SUBS**	**ПНФФ розчин субстрату** Готовий до використання Містить: р-нітрофенілфосфат (ПНФФ)
1x15 мл	**PNPP STOP**	**ПНФФ стоп розчин**, готовий до використання. Містить: 1M NaOH, 0,25 M ЕДТА
3x	**FOIL**	Клейова фольга

8. МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ, АЛЕ НЕ НАДАНІ

1. Мікропіпетки (Multipette Eppendorf або аналогічні пристрої, <3% CV). Об'єм: 10; 10-100; 100-1000 мкл
2. Орбітальний шейкер (200-900 об / хв.) (Наприклад, EAS 2/4, SLT)
3. Вихровий міксер
4. 8-канальна мікропіпетка з резервуаром для реактивів;
5. Промивна пляшка, автоматична або напівавтоматична система миття мікропланшетів.
6. Рідер мікропланшетів, здатний сприймати поглинання при 405 нм (референтна довжина хвилі 600-650 нм)
7. Бідистильована або дейонізована вода.
8. Паперові рушники, наконечники для піпетки та таймер
9. Одноразові пробірки для зразків.
10. 0,1 M HCl для розведення проби (сечі)

9.ПРОЦЕДУРА ПРИМІТКИ

1. Будь-яка неналежна обробка зразків 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 готові в належний час. Дозвольте всім реагентам та зразкам досягати кімнатної температури (18-25 ° C) і обережно прокрутити кожну ампулу рідкого реагенту та прикладів перед використанням. Змішувати реагенти без спінювання.
3. Уникайте забруднення реагентів, піпеток та лунок / пробірок. Використовуйте нові одноразові наконечники для піпетки для кожного компонента та зразка. Не обмінюйте ковпачки. Завжди закривайте флакони, які не використовуються. Не використовувати повторно лунки / пробірки або реагенти.
4. Деякі компоненти містять ≤ 250 мкл розчину. Перед тим, як відкрити, будьте обережними, щоб розчин був повністю на дні флакона.
5.Рекомендується визначати зразки в двох примірниках, щоб мати змогу виявити потенційні помилки піпетування.

6. Використовуйте схему піпетування для перевірки відповідного макета пластини. Схема піпетування, що охоплює обидві обробки зразків та аналіз, доступна на IBL-Homepage.
7. Час інкубації впливає на результат. Всі лунки повинні оброблятися в однаковій послідовності порядку та часу. Рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку для піпетування розчинів у всі лунки.
8. Важливо промити мікропланшет. Неправильно промиті лунки дадуть помилкові результати. Рекомендується використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну мийку мікропланшетів. Не дозволяйте лункам висихати між інкубаціями. Не подряпайте лунки під час промивання та аспірації. Промити і заповнити всі реагенти з обережністю. Промиваючи, перевірте, чи всі лунки рівномірно заповнені промивним буфером, і в них немає залишків у лунках.
9. Вологість впливає на покриті лунки / пробірки. Не відкривайте пакет, поки вона не досягне кімнатної температури. Призначені лунки / пробірки повинні бути негайно повернуті до закритого пакету, включаючи осушувач.

10.РУЧНА ПРОЦЕДУРА

10.1. ПЕРЕДТЕСТОВА ІНСТРУКЦІЯ З НАЛАШТУВАННЯ

Вміст набору для 96 визначень можна розділити на 2 окремі прогони.

10.1.1. Розведення зразків

Зразки, що підозрюються, що містять концентрації, що перевищують найвищий стандарт, розбавляють наступним чином

зразок	До розведення	з	примітка
плазма	>найвищого стандарту	Бідистильованою водою	Перед кроком екстракції
сеча	>найвищого стандарту	0.1 N HCl	Перед кроком екстракції

10.1.2. Екстракція зразків, стандартів та контролів (пластина екстракції) (ручна версія)

1. Прокапати 20 мкл кожного стандарту, контролю та сечі, а також 500 мкл кожної проби плазми у відповідні лунки екстракційної пластини. Додайте 500 мкл бідистильованої води до всіх лунок за винятком зразків плазми для виправлення різниці об'ємів.
2. Прокапати 1000 мкл екстракційного буфера в кожну лунку.
3. Покрити клейкою фольгою . Екстрагувати 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Під час екстракції поверхнею рідини слід змочити клейову фольгу, але рівень рідини не повинен перевищувати 2/3 лунки. Бризки не впливають на результат.
4. Видаліть клейову фольгу. Негайно опорожнити планшет і видалити залишкову рідину на паперовий рушник.
5. Прокапати в кожну лунку 2 мл води бідистильованої.
6. Покрити планшет з клейкою плівкою. Струсити 5 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Бризки не впливають на результат.
7. Видаліть клейову фольгу. Негайно опорожнити планшет і видаліть залишкову рідину на паперовий рушник. Видаліть рідину повністю
8.Прокапати 150 мкл екстракційного буфера у кожну лунку. До кожної лунки додають 50 мкл ацилюючого реагенту. Змішати одразу ж після піпетування.
9. Екстрагувати 20 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) (без клейкої фольги) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв) .
10. Негайно опорожнити планшет і видаліть залишкову рідину на паперовий рушник. Видалити рідину повністю.
11. Прокапати 2 мл бідист. води в кожну лунку.

12.Покрийте планшет новою клейовою фольгою. Струсити 5 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Бризки не впливають на результати.
13. Видаліть клейову фольгу. Негайно опорожніть планшет та видаліть залишкову рідину на паперовий рушник. Видаліть рідину повністю.
14. Прокапати 300 мкл буфера вивільнення в кожну склянку.
15. Струсити 30 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) (без клейкої фольги) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв).
Підготовлені зразки слід аналізувати того ж дня. Якщо це неможливо, ви можете зберігати екстракційну планшет, покриту клейовою фольгою при 2-8 ° C протягом ночі.

10.1.3. Підготовка концентрованих компонентів.

Розчинити / розвести	компонент	з	розчинник	співвідношення	примітки	зберігання	стабільність
25 мкл	**WASHBUF CONC**	225 мл	Бідистильована вода	1:10	Змішати енергійно	2-8°C	4 тижні
120 мкл	**ENZCONJ CONC**	6 мл	WASHBUF розведений	1:51	Приготувати свіжим і використовувати лише один раз. Змішати без спінювання.	18-25°C	5 годин

10,2. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ (ручна версія)
10.2.1. Підготовка COMT ферментного розчину.

* Якщо потрібна лише аліквота розчину COMT, решту розчину COMT слід негайно заморозити в аліквотах при -20 ° C. Розчин COMT стабільно в цих умовах протягом 1-2 місяців.

10.2.2. Ферментативна дериватизація зразків, Стандартів та контролів(мікропланшет)

10.2.2.1. **Для дослідження використання тканинних гомогенатів та супернатантів клітинної культури можна зробити загальні рекомендації**:
Робота з клітинною культурою супернатантів залежить від матриці, а також очікуваних концентрацій: відповідно до протоколу сечі (екстракція принаймні 20 мкл супернатанту) чутливість становить 0,3 нг / мл можна очікувати. У випадку матриксу з додаванням сироватки (ФКС) плазмовий протокол (екстракція 500 мкл супернатанту) може бути використаний з чутливістю, що відповідає плазмовому протоколу (див. 16.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ). Для гомогенатів тканин для гомогенізації не слід використовувати перхлорну кислоту . Для отримання додаткової інформації зверніться до IBL.

10.2.3. Адреналін для сечі та плазми

1. Прокапайте 75мкл свіжоприготованого комбінованого ферментного розчину COMT у кожну лунку мікропланшета. Струсіть мікропланшет коротко.
2. Прокапайте 100 мкл кожного екстрагованого Стандарту, Контролю та зразка у відповідні лунки. Під час цього кроку тримайте наконечники піпетки безпосередньо в розчині COMT. Колір зміниться до рожевого кольору. Струсніть коротко.
3. Прокапайте 50мкл адреналіну (зеленого кольору) у кожну лунку.
4. Покрити клейовою фольгою Інкубуйте 120 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв).
5. Видаліть клейову фольгу. Видалити інкубаційний розчин. Промивайте планшет 4 х з 250-300 мкл розбавленого промивного буфера. Видаліть надлишковий розчин, торкнувшись перевернутим планшетом паперового рушника.
6. Прокапайте 100мкл свіжоприготованого ферментного кон'югату в кожну лунку.
7.Покрийте планшет з новою плівкою. Інкубуйте 60 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв) .
8. Видаліть клейову фольгу. Відкинути інкубаційний розчин. Промивайте планшет 4 х з 250-300 мкл розбавленого промивного буфера. Видаліть надлишок розчину, натиснувши перевернутою пластиною на паперовий рушник.
9. Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо доступна, 8-канальну мікропіпетку. Піпетування слід проводити за однакових інтервалів часу для субстрату та стоп розчину. Використовуйте позитивне зміщення та уникайте утворення повітряних бульбашок.
10. Прокапайте 200 мкл розчину субстрату ПНФФ у кожну лунку.
11. Інкубуйте 40 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) (без клейової фольги) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв) .
12. Зупиніть реакцію субстрату, додаючи до кожної лунки 50 мкл пульсуючого розчину ПНФФ. Коротко змішуйте вміст, обережно струшуючи планшет.
13. Вимірюють оптичну щільність фотометром при 405 нм (референтна довжина хвилі: 620-650 нм) протягом 60 хвилин після піпетування стоп-розчину. Повітряні бульбашки не повинні бути видимі.

11. АВТОМАТИЧНА ПРОЦЕДУРА

Забруднення повітря пероксидним киснем, що міститься в дезінфікуючих засобах для чищення поверхонь або обладнання, що використовується як порошок або як розчини, наприклад VIRKON® , слід уникати в будь-якому випадку. Вони будуть сильно порушувати результати аналізу. VIRKON® є торговою маркою DuPont.

11.1.1. Розведення зразків

Зразки, що підозрюються, що містять концентрації, що перевищують найвищий стандарт, розбавляють наступним чином:

зразок	**До розведення**	**з**	**примітка**
плазма	>найвищого стандарту	Бідистильованою водою	Перед кроком екстракції
сеча	>найвищого стандарту	0.1 N HCl	Перед кроком екстракції

11.1.2. Екстракція зразків, стандартів та контролів (екстракційна пластина) (автоматизована версія)
1. Прокапайте 30 мкл кожного стандарту, контролю та сечі, а також 750 мкл кожної проби плазми у відповідні лунки екстракційної пластини. Додайте 750 мкл бідистильованої. води до всіх лунок за винятком зразків плазми для виправлення різниці об'ємів.
2. Прокапайте 1000 мкл екстракційного буфера в кожну лунку.
3. Покрийте з клейовою фольгою . Екстрагувати 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Під час екстракції поверхнею рідини слід змочити клейову фольгу, але рівень рідини не повинен перевищувати 2/3 лунки. Бризок не впливає на результат.
4. Видаліть клейову фольгу. Негайно опорожнити планшет і видаліть залишкову рідину на паперовий рушник.
5. Прокапайте 2 мл води бідистильованої в кожну лунку.
6. Покрити планшет новою клейовою фольгою. Струсніть 5 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Бризки не впливають на результат.
7. Видаліть клейову фольгу. Негайно опорожнити планшет і видаліть залишкову рідину на паперовий рушник. Видаліть рідину повністю.
8. Прокапайте 150 мкл екстракційного буфера у кожну лунку. До кожної лунки додають 50 мкл ацилюючого реагенту. Змішайте одразу ж після піпетування.
9. Екстрагувати 20 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) (без клейової фольги) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв) .
10. Негайно опорожнити планшет і видалити залишкову рідину на паперовий рушник. Видалити рідину повністю.
11. Прокапати 2 мл бідистильованої води в кожну лунку.
12. Покрити новою клейовою фольгою. Струсити 5 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Бризки не впливають на результати.
13.Видаліть клейку фольгу. Негайно опорожніть планшет та видаліть залишкову рідину на паперовий рушник. Видаліть рідину повністю.
14. Прокапайте 450 мкл буфера для вивільнення в кожну лунку.
15. Струсити 30 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) (без клейкої фольги) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв).
Отримані зразки слід аналізувати того ж дня. Якщо це неможливо, ви можете зберігати екстракційну планшет, покриту клейовою фольгою при 2-8 ° C протягом ночі.

11.1.3. Підготовка концентрованих компонентів (автоматизована версія)

Розчинити / розвести	**компонент**	**з**	**розчинник**	**співвідношення**	**примітки**	зберігання	стабільність
50 мкл	**WASHBUF CONC**	450 мл	Бідистильована вода	1:10	Змішати енергійно	2-8°C	4 тижні
190 мкл	**ENZCONJ CONC**	9,5 мл	WASHBUF розведений	1:51	Приготувати свіжим і використовувати лише один раз. Змішати без спінювання.	18-25°C	5 годин

11,2. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ (автоматизована версія)
11.2.1. Підготовка COMT ферментного розчину.

* Якщо потрібна лише аліквота розчину COMT, решту розчину COMT слід негайно заморозити в аліквот при -20 ° C. Рішення COMT стабільно в цих умовах протягом 1-2 місяців.

11.2.1.1. Для дослідження використання тканинних гомогенатів та супернатантів клітинної культури можна зробити загальні рекомендації:
робота з клітинною культурою супернатантів залежить від матриці, а також очікуваних концентрацій: відповідно до протоколу сечі (екстракція принаймні 20 мкл супернатанту) чутливість становить 0,3 нг / мл можна очікувати. У випадку матриці з додаванням сироватки (ФКС) плазмовий протокол (екстракція 500 мкл супернатанту) може бути використаний з чутливістю, що відповідає плазмовому протоколу (див. 16. ХААКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ). Для гомогенатів тканин для гомогенізації не слід використовувати перхлорну кислоту . Для отримання додаткової інформації зверніться до IBL.

11.2.2. Адреналін для сечі та плазми
1. Прокапайте 75мкл свіжоприготованого COMT ферментного розчину в кожну лунку мікропланшета. Струсіть планшет 1 хв.
2. Прокапайте 100 мкл кожного екстрагованого Стандарту, контролю та зразка у відповідні лунки. Струсіть планшет 1 хв.
3. Прокапати 50 мкл анти сироватку адреналіну (зеленого кольору) у кожну лунку.
4. Покрити планшет. Інкубуйте 120 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв) .
5. Видаліть інкубаційний розчин. Промивайте планшет 6 x з 250-300 мкл розбавленого промивного буфера.
6. Прокапайте 100 мкл ферментного кон'югату в кожну лунку.
7. Покрийте планшет. Інкубувати 60 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв) .
8. Видаліть інкубаційний розчин. Промивайте планшет 6 x з 250-300 мкл розбавленого буферу для промивки.
9. Піпетування слід проводити в один і той же проміжок часу для субстрату та стоп розчину.
10. Прокапайте 200 мкл розчину субстрату ПНФФ у кожну лунку.
11. Інкубуйте 40 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв). Якщо температура автоматично перевищує 25 ° C, скоротити час інкубації до 30 хв, щоб уникнути переповнення сигналу.
12. Зупиніть реакцію субстрату шляхом додавання 50 мкл стоп розчину ПНФФ у кожну лунку. Коротко змішайте вміст, обережно струшуючи планшет.
13. Виміряйте оптичну густину фотометром при 405 нм (референтна довжина хвилі: 620-650 нм) протягом 60 хв після піпетування стоп розчину.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ
Результати випробувань є дійсними лише тоді, коли тест було виконано відповідно до інструкцій. Більше того, користувач повинен суворо дотримуватися правил GLP (належної лабораторної практики) або аналогічних стандартів / законів. Користувач та / або лабораторія повинні мати перевірену систему для отримання діагнозу відповідно до GLP. Всі контролі повинні бути знайдені в межах прийнятного діапазону, як вказано на етикетках та сертифікаті якості. Якщо критерії не виконуються, пробіг недійсний, і його слід повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки як додаткові засоби контролю. Рекомендується брати участь у відповідних випробуваннях з оцінки якості. У разі будь-якого відхилення необхідно підтвердити такі

технічні питання: дати закінчення терміну придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, пристрої, інкубації умови та методи прання.

13. РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТУ

Отримані ОГ стандартів (у-вісь, лінійна) наносяться на їхню концентрацію (ось х, логарифмічна) або на напівлогарифмічному графічному папері, або за допомогою автоматичного методу. Добра відповідність забезпечена кубічним spline, 4 параметрами Logisitcs або Logit-Log.

Для розрахунку стандартної кривої застосовують кожен сигнал стандартів. Концентрація контролю набору та зразки сечі можуть бути прочитані безпосередньо з відповідної стандартної кривої . Через піпетування об'єму 500 мкл (автоматизована версія: 750 мкл) для плазмі в порівнянні до 20 мкл (автоматична версія: 30 мкл) для стандартів, результати для зразків плазми повинні бути розділені на 25. Для одиниць в пг / мл, будь ласка помножити на 1000.

В випадку розбавлених зразків значення повинні бути помножені на відповідні коефіцієнти розведення . Зразки, що показують концентрації вище найвищого стандарту повинні бути розведені, як описано в інструкції ПЕРЕДТЕСТОВОГО НАЛАШТУВАННЯ і пере аналізовані. Розраховуйте 24 г екскреції сечі для кожного зразку: мкг / 24 год = мкг / л х л / 24 г

Конверсія:

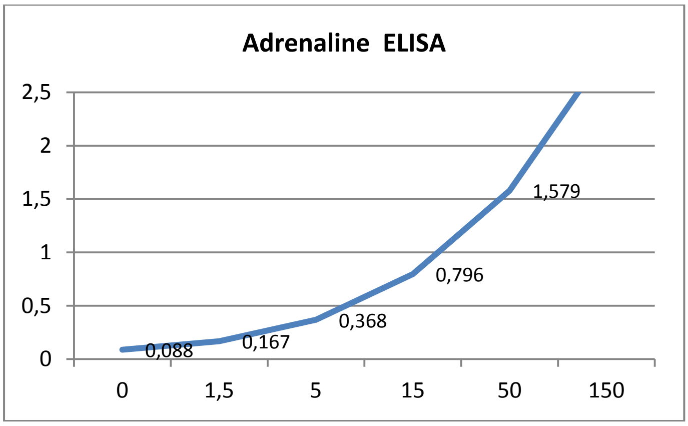
1000 пг / мл = 1 нг / мл

Адреналін (мкг / л) х 5.458 = нмоль / л

Типова Калібрувальна крива (Адреналін)

(Приклад не слід використовувати для розрахунку.!)

стандарт	Адреналін (нг/мл)	ОГ (середнє)	ОГ/ОГ макс (%)
A	0.0	0.088	3.1
B	1.5	0.167	5.8
C	5.0	0.368	12.8
D	15	0.796	27.6
E	50	1.579	54.8
F	150	2.881	100



14. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Результати не повинні бути єдиною причиною за будь - яких терапевтичних наслідків. Вони повинні бути пов'язані з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами. Очевидно здорові особи демонструють такі значення: (5% - 95% процентиль). Рекомендується, щоб кожен лабораторія встановила власний діапазон нормальних значень.

	сеча		плазма	
	Мкг/д	Нмоль/д	Пг/мл	Нмоль/л
адреналін	<20	<110	<125	<0,68

15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Збір зразків та зберігання мають значний вплив на результати випробувань.
Див ЗАБІР ЗРАЗКІВ І ЗБРІГАННЯ для деталей.
Для перехресних реакцій, див. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ
Наступні компоненти крові не роблять істотного ефекту (+/- 20% від очікуваного) за результатами випробувань до величин нижче зазначених концентрацій: Гемоглобін 2,0 мг / 1,0 мл
Білірубін 1,0 мг / мл
Тригліцерид 91 мг / мл

16.ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

Аналітична специфічність (перехресна реактивність)	**речовина**	**адреналін**	Перехресна реактивність інших речовин протестованих <0,4%	
	Адреналін	100		
	норадреналін	< 0.4		
	метанефрин	< 0.1		
	норметанефрин	< 0.1		
Аналітична чутливість (межа виявлення)	сеча	0,2 нг/мл	Середній сигнал (нульовий стандарт) + 2 СВ	
	плазма	8 пг/мл		
точність		Діапазон (нг/мл)	CV (%)	
В аналізі	сеча	5,0-64,3	8,7	
	плазма	0,046-1,060	6,8	
Між аналізами	сеча	5,2-74,5	12,1	
	плазма	0,051-0,979	15,2	
Лінійність		Діапазон (нг/мл)	Серійне розведення до	Діапазон (%)
	сеча	2,7-114,6	1:32	85-105
	плазма	0,002-0,837	1:32	76-120
	Крюк-ефект не спостерігався.			
Відновлення		Середнє (%)	Діапазон (%)	% відновлення після збагачення
	сеча	95,0	85-106	
	плазма	100,0	85-120	
Метод порівняння в порівнянні HPLC	IBL = 0.91 x HPLC + 14.0; r = 0.969; n = 120			

17. ЛІТЕРАТУРА

1. Rust MB, Faulhaber J et. al. Neurogenic Mechanisms Contribute to Hypertension in Mice with Disruption of the K-CL Cotransporter KCC3. Circulation Research, January (2006)
2. Creces J., Appleton Ch.: Catecholamines and their Metabolites: Evaluation of a commercial ІФА. Clin. Biochem., QML Pathology, Brisbane QLD (2004)
3. Adams, J. M. et al. Effects of 17□-Estradiol on hypoglycemia-induced increases in plasma catecholamines in the rat. Poster Society for Neuroscience, Annual Meeting, New Orleans (2003)
4. Westermann J, Hubl W, Kaiser N, Salewski L, Simple, rapid and sensitive determination of epinephrine and norepinephrine in urine and plasma by non-competitive enzyme immunoassay, compared with HPLC method. Clin. Lab., 48: 61-71 (2002)

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 ВКАЗАНОГО (-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	Тел .:	+ 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11
Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург, Німеччина	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