Українська

Інструкція з використання

Кортизол ІФА

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення кортизолу в сироватці та плазмі людини.

REF **RE52061**

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. ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення кортизолу в сироватці та плазмі людини.

2.ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ І ПОЯСНЕННЯ

Кортизол (гідрокортизон, з'єднання F) є основним глюкокортикоїдом у людини і виробляється в пучковій зоні кори надниркових залоз. 90% циркулюючого кортизолу пов'язане з кортикоїдним зв'язуючим глобуліном (ЦБГ, транскортин), бл. 7% пов'язані з альбуміном і лише 1–3% - не пов'язаними. Тільки остання частина являє собою активну форму кортизолу.

У людини спостерігається фізіологічне коливання кортизолу, що досягає найвищого рівня вранці та найнижчого вночі. Це коливання рівня плазми кортизолу відображається в слині, як правило, з піком в перші 90 хвилин після пробудження.

Вимірювання кортизолу показано при захворюваннях з порушенням вироблення глюкокортикоїдів, наприклад Кушинга Синдром і хвороба Аддісона. Через добове коливання рівнів кортизолу потрібно збирати кілька зразків для індивідуального профілю кортизолу або під час динамічних випробувань, таких як пригнічення дексаметазону або тест на стимуляцію АКТГ.

3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Аналіз імуноферментних сполук на твердій фазі (ІФА) заснований на принципі конкуренції. Невідома кількість антигену, присутнього у зразку, і фіксована кількість антигену, міченого ферментом, конкурують за сайти зв'язування антитіл, нанесених на лунки. Після інкубації лунки промивають для зупинки реакції конкуренції. Після реакції субстрату інтенсивність розвиненого кольору обернено пропорційна кількості антигену у зразку. Результати зразків можна визначити безпосередньо, використовуючи стандартну криву.

4. Попередження та запобіжні заходи

1. Тільки для in vitro діагностики. Тільки для професійного використання.
2. Перш ніж розпочати аналіз, повністю та уважно прочитайте інструкцію. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладену в пакет, що постачається в наборі. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
3. У разі серйозного пошкодження набору, будь-ласка, зверніться до IBL або до Вашого постачальника у письмовій формі через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти в тестових прогонах, але зберігайте їх для вирішення питань, пов'язаних зі скаргами.
4. Дотримуйтесь номеру партії та терміну придатності. Не змішуйте реагенти різних партій. Не використовуйте реагенти поза терміном придатності.
5. Дотримуйтесь належної лабораторної практики та рекомендацій з безпеки. Носіть лабораторні пальто, одноразові рукавички з латексу та захисні окуляри, де це необхідно.
6. Реагенти цього набору, що містять небезпечні речовини, можуть викликати подразнення очей та шкіри. Дивіться МАТЕРІАЛИ НАДАНІ та етикетки для деталей. Дані щодо безпеки матеріалів для цього продукту доступні на сторінці IBL Home або на запит безпосередньо від IBL.
7. Хімічні речовини та підготовлені або використані реагенти повинні обертатися з небезпечними відходами відповідно до національних вказівок чи правил щодо біологічної небезпеки та техніки безпеки.
8. Персонал прибиральників повинен керуватися професіональними керівництвами щодо можливих небезпек та поводження з ними.
9. Уникайте контакту з розчином Стоп. Це може викликати подразнення шкіри та опіки.
10. Усі реагенти цього набору, що містять людську сироватку або плазму, були протестовані і виявлені негативними анти-ВІЛ I / II, HBsAg та анти-HCV. Однак присутність тих чи інших інфекційних агентів не може бути виключено абсолютно. З цієї причини реагенти слід розглядати як потенційну біологічну небезпеку під час використання та для утилізації.

5. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір постачається при температурі навколишнього середовища і його слід зберігати при температурі 2-8 ° С. Тримайте подалі від тепла чи прямого сонячного світла. Зберігання та стабільність зразків та підготовлених реагентів зазначено у відповідних главах.

Стріпи мікропланшетів стабільні до дати закінчення терміну придатності в наборі, але при щільно закритому пакеті, коли зберігають при 2-8 ° С.

6.ЗАБІР ЗРАЗКІВ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Сироватка, плазма (ЕДТА, гепарин, цитрат)

Звичайні запобіжні заходи для венепункції слід спостерігати. Важливо зберегти хімічну цілісність зразка крові від моменту його збирання до моменту аналізу. Не використовуйте грубо гемолітичні, жовтяничні або грубо ліпемічні зразки. Зразки, що з'являються мутними, повинні бути центрифуговані перед аналізом для видалення будь-яких частинок матеріалу.

зберігання	2-8°C	≤ -20°C (аліквоти)	Тримайте подалі від нагрівання або прямого сонячного проміння. Уникайте повторних циклів заморожування відтавання .
стабільність	48 годин	6 місяців	

7. МАТЕРІАЛИ НАДАНІ

Кількість	позначення	компонент
1x12x8	MTP	**Мікропланшет** Розборні стріпи. Покриті антикортизоловими антитілами (кролячі, поліклональні)
1x25 мл	ENZCONJ	**Ферментний кон'югат** Готовий до використання. Містить: кортизол, кон'югований з HRP, стабілізатори.
7x1,0 мл	CAL A-G	**Стандарти A-G** 0; 20; 50; 100; 200; 400; 800 нг / мл 0; 55,2; 138; 276; 552; 1104; 2208 нмоль / л Готовий до використання. Містить: кортизол, сироватка людини, стабілізатори
2x1мл	CONTROL 1 + 2	Контроль 1 + 2 Готовий до використання. Містить: кортизол, сироватка людини, стабілізатори.
1x15 мл	TMB SUBS	Розчин субстрату ТМБ Готовий до використання. Містить: ТМБ, буфер, стабілізатори
1x15 мл	TMB STOP	ТМБ стоп розчин Готовий до використання. 0,5 М H2SO4
1x100 мл	WASHBUF CONC	Буферний концентрат для промивання (10x)
1x	FOIL	Клейова фольга

8. ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, АЛЕ НЕ НАДАНІ

1. Мікропіпетки (мультиплетний Еппендорф або подібні пристрої, <3% CV). Обсяг: 20; 100; 200 мкл
2. Вихровий міксер
3. 8-канальна мікропіпетка з резервуарами реагенту
4. Промивна пляшка, автоматизована або напівавтоматизована система миття мікропланшетів
5. Рідер мікропланшетів, здатний зчитувати поглинання при 450 нм (довжина референтної хвилі 600-650 нм)
6. Бідистільована або дейонізована вода
7. Паперові рушники, підказки для піпеток та таймер.

9. ПРИМІТКИ ПРОЦЕДУРИ

1. Будь-яке неправильне поводження із зразками або модифікація процедури випробування може вплинути на результати. Вказані обсяги піпетування, час інкубації, температура та етапи попередньої обробки виконуються строго згідно з інструкцією. Використовуйте тільки калібровані піпетки та пристрої.

2. Після того, як тест розпочато, всі етапи повинні бути виконані без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої готуються у відповідний час. Дозволити всім реагентам і зразкам, досягти кімнатної температури (18-25 ° C) і обережно закрутити кожен флакон з рідким реагентом і зразком перед використанням. Змішуйте реагенти без піноутворення.

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

4. Рекомендується визначати зразки у двох примірниках, щоб мати можливість ідентифікувати можливі помилки піпетування.

5. Використовуйте схему піпетування, щоб перевірити відповідну компоновку планшета.

6. Час інкубації впливає на результати. Усі лунки повинні оброблятися в одному порядку та часовій послідовності. Рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку для піпетування розчинів у всіх лунках.

7. Важливе промивання мікропланшетів. Неправильно промиті лунки дадуть помилкові результати. Рекомендується використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну систему миття мікропланшетів. Не дати лункам висохнути між інкубаціями. Не подряпайте покриті лунки під час промивання та аспірації. Промийте і наповніть усі реактиви обережно. Під час полоскання перевірте, чи всі лунки заповнені точно промивним буфером, і що в лунках немає залишків.

8. Вологість впливає на покриті лунки / пробірки. Не відкривайте пакет, поки він не досягне кімнатної температури. Невикористані лунки / пробірки слід негайно повернути в запечатаний пакет, включаючи осушувач.

10. ІНСТРУКЦІЇ З ПОПЕРЕДНЬОГО НАЛАШТУВАННЯ

Вміст набору для 96 визначень можна розділити на 3 окремих прогони.
Наведені нижче обсяги є за один пробіг із усіма стріпами (96 визначень).

10.1. Приготування концентрованих компонентів

Розчинити / розвести	компонент	з	розчинник	співвідношення	примітка	зберігання	стабільність
100 мл	**WASHBUF**	**900 мл**	**Бідистильо-вана вода**	**1:10**	**Змішайте ретельно**	2-8°C	**8 тижнів**

10.2. Розведення зразків

Зразки, які підозрюють, що містять концентрації, що перевищують найвищу норму, повинні бути розведені Стандартом А. Розведення потрібно проводити у скляних пробірках. Виміряні результати необхідно помножити з коефіцієнтом розведення для отримання виправлених результатів.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

1. Піпетувати 20 мкл кожного стандарту, контролю та зразка у відповідні лунки мікропланшета.
2. В кожну лунку піпетуйте 200 мкл кон'югату ферменту.
3. Накрийте пластину клейкою фольгою. Ретельно перемішайте протягом 10 секунд.
4. Інкубуйте 60 хв при КТ (18-25 ° C).
5. Зніміть клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте планшет 3 x 300 мкл розведеного промивного буфера. Видаліть зайвий розчин, натиснувши перевернутим планшетом на паперовий рушник.
6. В кожну лунку піпетуйте 100 мкл розчину субстрату ТМБ.
7. Інкубуйте 15 хв при КТ (18-25 ° C).
8. Зупиніть реакцію субстрату, додаючи 100 мкл стоп-розчину ТМБ в кожну лунку.
Коротко перемішайте вміст, обережно струшуючи планшет. Колір змінюється від синього до жовтого.
9. Виміряйте оптичну густину фотометром при 450 нм (референтна довжина хвилі: 600-650 нм) протягом 10 хв після піпетування стоп розчину.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати аналізу є дійсними лише в тому випадку, якщо аналіз проводився відповідно до інструкцій. Більше того, користувачі повинні суворо дотримуватися правил НЛП (належної лабораторної практики) або порівняних стандартів / законів. Користувач та / або лабораторія повинні мати валідовану систему для діагностики відповідно до НЛП. Усі контролі повинні бути знайдені в межах прийнятного діапазону, як зазначено на етикетках та сертифікаті КЯ. Якщо критерії не виконані, пробіг недійсний і його слід повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки в якості подальшого контролю.
Рекомендується брати участь у відповідних випробуваннях з оцінки якості.
У разі будь-якого відхилення слід підтвердити наступні технічні питання: терміни придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, прилади, умови інкубації та способи промивання.

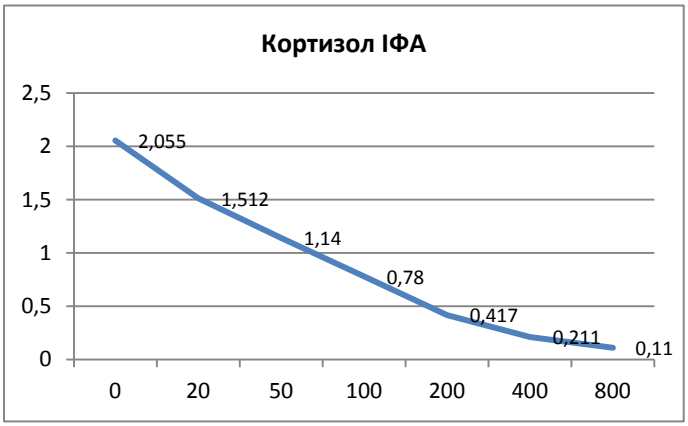
13. ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані ОГ стандартів (вісь y, лінійна) будуються на основі їх концентрації (вісь x, логарифмічна) або на напівлогарифмічному графічному папері, або за допомогою автоматизованого методу. Гарне пристосування забезпечується кубічним сплайн, 4 параметрів логістика або Logit-Log.
Для обчислення стандартної кривої застосуйте кожен сигнал стандартів (у випадку явних відхилених даних одного з двох повторень від очікуваного дозволити використовувати більш акуратне значення).
Концентрацію зразків можна прочитати безпосередньо зі стандартної кривої.
Зразки, що показують концентрації вище найвищого стандарту, повинні бути розведені, як описано в

ІНСТРУКЦІЇ з попереднього використання та аналізовані.
У разі розведених зразків значення необхідно помножити на відповідний коефіцієнт розведення.
Конверсія:
Кортизол (нг / мл) x 2,76 = нмоль / л
Кортизол (мкг / дл) x 27,6 = нмоль / л

Типова калібрувальна крива
(Приклад. Не використовуйте для обчислення!)

Стандарт	Кортизол (нг/мл)	Середнє ОГ	ОГ/ОГ макс (%)
A	0	2.055	100
B	20	1.512	73.6
C	50	1.140	55.5
D	100	0.780	37.9
E	200	0.417	20.3
F	400	0.211	10.2
G	800	0.110	5.33



14. Очікувані значення
Самі результати не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Вони повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.
Очевидно здорові суб'єкти мають такі значення:

	Нг/мл	Нмоль/л
AM	50-230	138-635
PM	30-150	82,8-414

Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала власний діапазон нормальних значень.

15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ
Збір та зберігання зразків суттєво впливають на результати випробувань. Див. ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ для деталей.
Інформацію про перехресну реактивність див.

Наступні компоненти крові не мають істотного впливу (+/- 20% від очікуваного) на результати тесту до зазначених нижче концентрацій:

	Нг/мл	Нмоль/л
AM	50-230	138-635
PM	30-150	82,8-414

16. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

Аналітична специфічність (перехресна реактивність)	**речовина**	**Перехресна реактивність %**		**Перехресна реактивність інших аналізованих речовин <0,01%**
	преднізолон	**30**		
	11-дезокікортизол	**7,0**		
	кортикостерон	**1,4**		
	кортизон	**4,2**		
	преднізон	**2,5**		
	17альфа –ОН прогестерон	**0,4**		
	дезоксікортикостерон	**0,9**		
	6альфа метіл-17альфа-ОН прогестерон	**0,04**		
Аналітична чутливість (Ліміт виявлення)	**2,46 нг/мл**	**Середній сигнал (нульовий стандарт)-2СВ**		
Функціональна чутливість	**4,03 нг/мл**	**Середня концентрація <20%CV**		
Сироватка нг/мл				
Точність	**Концентрація (нг/мл)**	**СВ (нг/мл)**	**CV(%)**	**кількість**
В аналізі	**43,1**	**1,25**	**2,90**	**20**
	223	**5,71**	**2,57**	**20**
	404	**14,0**	**3,47**	**20**
Між аналізами	**68,6**	**3,43**	**5,00**	**20**
	335	**7,14**	**2,13**	**20**
	563	**19,2**	**3,41**	**20**
Лінійність	**розведення**	**Середнє (нг/мл)**	**Лінійність (%)**	
	1:2	**51,9**	**98,6**	
	1:4	**29,5**	**113**	
	1:8	**16,8**	**114**	
	1:16	**8,10**	**96,4**	
	1:2	**321**	**92,7**	
	1:4	**149**	**97,8**	
	1:8	**72,8**	**101**	
	1:16	**36,9**	**105**	
	1:2	**287**	**101,7**	
	1:4	**131**	**91,1**	
	1:8	**63,2**	**96,8**	
	1:16	**32,0**	**101,3**	
Відновлення	**Середнє (%)**	**Діапазон (%)**		
	99,9	**88-106**		

17. ЛІТЕРАТУРА

Vogelgesang A, May V E L, Grunwald U, Bakkeboe M, Langner S, Wallaschofski H, Kessler CH, Bröker B M, Dressel A. Functional status of peripheral blood T-cells in ischemic stroke patients. PLoS One 2010, 5(1):e8718
2 Shamsdin SA, Anvar M, Mehrabani D. The Effect of Exam Stress on Serum IL-6, Cortisol, CRP and IgE Levels. Iranian Red Crescent Medical Journal. 01/01/2010;
3 Van de Nieuwegiessen, P. G., 2009. Welfare of African catfish, effects of stocking density. PhD Thesis, Wageningen University, The Netherlands. ISBN: 978-90-8504-986-9
4 Bruehl H, Wolf OT, Sweat V, Tirsi A, Richardson S, Convit A. Modifiers of cognitive function and brain structure in middle-aged and elderly individuals with type 2 diabetes mellitus. Brain Res. 2009 Jul 14;1280:186-94. Epub 2009 May 20.
5 Andreas Bohringer , Lars Schwabe, Steffen Richter, Hartmut Schachinger. Intranasal insulin attenuates the hypothalamic—pituitary—adrenal axis response to psychosocial stress. Psychoneuroendocrinology (2008) 33, 1394—1400.
6 Zubidat AE, Ben-Shlomo R, Haim A. Thermoregulatory and endocrine responses to light pulses in short-day acclimated social voles (Microtus socialis).Chronobiology International, 24(2): 269–288, (2007).
7 Sliwa E.Effect of simultaneous versus apart administration of dexamethasone and alpha-ketoglutarate on growth hormone, cortisol and insulin-like growth factor-I in piglets. Bull Vet Inst Pulawy 50, 205-210, 2006

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