Українська

Інструкція з використання

ТріКат ТМ ІФА

Ручний та автоматизований імуноферментний аналіз для in-vitro діагностики кількісного визначення адреналіну, норадреналіну та допаміну в плазмі людини та сечі.

REF RE59395

3x96

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

Ручний та автоматичний імуноферментний аналіз для in vitro діагностики для кількісного визначення адреналіну (епінефрину), норадреналіну (норепінефрину) і дофаміну в плазмі людини та сечі.

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 діагностика та подальше лікування пухлинних захворювань нервової системи важливі. Це стосується в першу чергу феохромоцитоми, але також нейробластоми і гангліоневроми . Через етап екстракції на початку аналізу клієнт може використовувати всі види тваринних видів матеріалу. Він працює для щурів, мишей та інших. Хімічна структура катехоламінів ідентична у всіх тварин.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

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

4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

1. Для діагностики in-vitro тільки для використання. Тільки для професійного використання.
2. Перед початком аналізу уважно прочитайте інструкції. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладену в пакет з набором. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
3. У випадку серйозного пошкодження пакету набора звертайтесь до IBL або вашого постачальника у письмовій формі, не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти під час тестування, але зберігання їх безпечне для вирішення питань, пов'язаних зі скаргою.
4. Перевірте номер партії та дату закінчення терміну дії. 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 етикетки для деталей. Паспорти безпеки матеріалів для цього продукту доступні на IBL Homepage 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 комплекту, 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 потенційно 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 главах.
Стріпи мікропланшета стабільні до зазначеного терміну придатності після розкриття набору. Переконайтеся, що розкритий пакет щільно закритий при зберіганні при 2-8 ° C.

6. ЗАБІР ЗРАЗКІВ ТА ЗБЕРІГАННЯ

На вивільнення катехоламіну та метанефрину in vivo впливають кілька продуктів харчування та ліки. Вітамін В, кава та банани, альфа - метилдопа, інгібітори МАО та COMT , а також ліки, пов'язані з гіпертензією, слід припинити, принаймні, за 72 години до початку забору зразків.

Плазма (ЕДТА)

Зразок крові слід зберігати при 2-8 ° C до центрифугування, щоб відокремити плазму протягом 2 годин після забору крові.

Звичайні запобіжні заходи для венепункції слід спостерігати. Важливо зберегти цілісність хімічної речовини зразка крові з моменту її збирання до моменту аналізу. Не використовуйте сильно гемолітичні, жовтяничні або грубо липемічні зразки. Зразки, що з'являються мутними, повинні бути центрифуговані перед аналізом для видалення будь-яких частин із твердими матеріалами.

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

Сеча.

Можливо використовувати як спонтанну, так і 24 годинну сечу. Загальний об'єм сечі, що виділяється протягом 24 годин, 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 центрифугуйте зразки перед використанням у дослідженні.

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	

7. МАТЕРІАЛИ НАДАНІ

Реагенти, забезпечені цим набором, достатні для 96 екстракцій за одиничними визначеннями у підготовці зразку (екстракції): 88 проб пацієнтів, 6 стандартів і 2 контролі. Кожен екстракт достатній для одного визначення адреналіну, норадреналіну та допаміну імуноферментним аналізом. Мікропланшет може бути використаний для всіх трьох аналізів : адреналіну, норадреналіну та допаміну.

кількість	**символ**	**компонент**
3x12x8	**MTP**	**Мікропланшет** Розбірні стріпи. Покритий анти-кролячим IgG (Козячий, поліклональний)
1x6x2,5 мл	**CAL A-F**	**Стандарт A-F** 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 використання. Містить: [-] Адреналін, [-] Норадреналін, [-] Допамін (біологічно активний), 0,1 M HCl. Точні концентрації див. етикетки флаконів або сертифікати QC.
3x400 мл	**ENZCONJ CONC**	**Ферментний кон'югат концентрат (50x)** Містить: стрептавідин лужну фосфатазу, трис буфер, стабілізатори.

4x	**EXTRPLATE**	**Пластина екстракції (пластина мікропланшета)** 24 лунки кожна. Покритий гелем спорідненим з борнатом.
2x60 мл	**EXTRBUF**	**Буфер екстракції.** Рожевого кольору. Готовий до використання. Містить : 0,016 % NaN3.
6x1,25 мл	**COMT LYO**	**COMT lyophilized** Містить: кате хол -О- метилтрансфераз (свиняча печінка), NaN3.
6x1,25 мл	**COENZ**	**Розчин коензиму** Готовий до використання. Містить: S-аденозил-L-метионін, стабілізатори
3x3мл	**ENZBUF**	**Ферментний буфер** Готовий до використання. Містить: Трис буфер, HCl, стабілізатори
1x100 мл	**RELEASEBUF**	**Буфер вивільнення** Жовтий колір. Готовий до використання. Містить: 0.1 M HCl,
2x3,0 мл	**ACYLREAG**	**Ацилюючий реагент** Готовий до використання. Містить: диметилформамід, етанол. Увага! Токсичний , легкозаймистий (горючий)
2x100 мл	**WASHBUF CONC**	**Промивний буфер концентрат (10x)** Містить: Трис буфер, HCl, Tween, 0,2% NaN3
2x2мл	**COMT ADD**	**COMT добавка** Містить: людську плазму, стабілізатори, 0,01% тимерозалу
1x8,0 мл	**ANTISERUM AD**	**Адреналін Антисироватка** Зелений колір. Готовий до використання. Містить: антитіла проти адреналіну (кролика), буфер,стабілізатори
1x8,0 мл	**ANTISERUM NAD**	Норадреналін антисироватка Синій колір. Готовий до використання. Містить: антитіла проти норадреналіну (кролика), буфер, стабілізатори
1x8,0 мл	**ANTISERUM DO**	**Дофамін антисироватка** фіолетового кольору Готова до використання. Містить: антитіла проти допаміну (кролика), буфер,стабілізатори
3x25 мл	**ПНФФ SUBS**	ПНФФ розчин субстрату Готовий до використання. Містить: п-нітрофенілфосфат (ПНФФ).
3x15мл	**ПНФФ STOP**	ПНФФ стоп розчин Готовий до використання. Містить: 1 M NaOH, 0,25 M EDTA.
9x	**FOIL**	**Клейова фольга**

8. МАТЕРІАЛИ НЕОБХІДНІ, АЛЕ НЕ НАДАНІ

1. Мікропіпетки (Multipette Eppendorf або подібні 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 резервуарами регентів.
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 розведення зразків.
10. 0,1 M HCl для розведення зразку (сечі)

9. ПРОЦЕДУРА ПРИМІТКИ

1. Будь-яке неправильне поводження із зразками або модифікація процедури випробувань може вплинути на результати. Вказані обсяги піпетування, періоди інкубації, температура 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 досягти кімнатної температури (18-25 ° C) і обережно прокрутити кожний флакон рідкого реагенту та приклади перед використанням. Змішувати реагенти без піноутворення.
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. Рекомендується визначати зразки в двох примірниках, щоб мати змогу виявити потенційні помилки в піпетуванні.
5. Використовуйте схему піпетування для перевірки відповідного макета пластини. Схема піпетування, що 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 розчинів в усіх лунках.
7. Промивка мікропланшета важлива. 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. Під час промивання перевірте, чи всі лунки рівномірно заповнені мийним буфером, і немає залишків у лунках.
8. Вологість впливає на покриті лунки / пробірки. Не відкривайте пакет, доки він не досягне кімнатної температури. Невикористані лунки/пробірки повинні бути негайно повернені до закритого пакету, включаючи осушувач.

10. ПРОЦЕДУРА РУЧНА

10.1. ІНСТРУКЦІЯ З ПЕРЕДТЕСТОВОЇ УСТАНОВКИ

Вміст набору для визначення 3 x 96 можна розділити на 2 окремі прогони.

Видимі кількості гелю можна відокремити від поверхні екстракційної пластини під час екстракції. Це не впливає на результати випробувань.

Забруднення повітря перекисом, який міститься в дезінфікуючих засобах для чищення поверхонь або обладнання, яке 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.

10.1.1. Розведення зразків

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

зразок	До розведення	з	зауваження
Плазма	Вищого стандарту	Бідистильована вода	перед кроком екстракції
сеча	> Вищого стандарту	0.1 N HCl	перед кроком екстракції

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

1. Прокапайте 20 мкл кожного стандарту, контролю та сечі, а також 500 мкл кожної проби плазми у відповідних лунках екстракційної пластини. Додайте 500 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. Покрити клейкою фольгою. Екстрагувати 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Під час екстракції поверхню рідини слід змочити клейкою фольгою, але рівень рідини не повинен перевищувати 2/3 лунки. Бризки не впливають на результат.
4. Видаліть клейку фольгу. Негайно опорожнити пластину і видаліть залишкову рідину на паперовий рушник.
5. Прокапайте 2 мл бідистильованої води в кожну лунку.
6. Покрити пластину новою плівкою. Струшувати 5 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Бризки не впливають на результат.
7. Видаліть клейку фольгу. Негайно опорожнити пластину 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. 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 пластину і видаліть залишкову рідину на паперовий рушник. Видалити рідину повністю.
11. Прокапати 2 мл бідистильованої води в кожну лунку.
12.Покрити з новою плівкою. Струсніть 5 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Бризки не впливають на результати.
13. Видаліть клейку фольгу. Негайно опорожніть пластину та видаліть залишкову рідину на паперовий рушник. Видаліть рідину повністю.
14. Прокапайте 300 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).

Підготовлені зразки слід аналізувати того ж дня. Якщо це неможливо, ви можете зберігати екстракційну пластину, закриту клейовою фольгою при 2-8 ° C протягом ночі.

Важливо для вимірювання допаміну. Розведення екстрагованого стандарту, контролю повинно бути виконано перш ніж піпетування в лунки мікропланшету в додаткових пробірках. Попередньо розведіть зразки сечі. Тому розбавте всі екстраговані стандарти, контролі та зразки сечі 1:51 з буфером вивільнення (тобто 10 мкл екстрагованих зразків + 500 мкл буфера вивільнення). Екстраговані зразки плазми не потребують попереднього розведення.

10.1.3. Підготовка концентрованих компонентів.

	Обсяги, наведені нижче, для одного прогону з 3 х 6 смужками (3 х 48 визначень)						
Розвести/ розчинити	**компонент**	**з**	**розчинник**	**співвідношення**	**зауваження**	**зберігання**	**стабільність**
75 мл	**WASHBUF CONC**	**675 мл**	**Бідистильована вода**	**1:10**	**Змішати ретельно**	2-8°C	**4 тижні**
300 мл	**ENZCONJ CONC**	**15 мл**	**Промивний буфер (розведений)**	**1:51**	**Приготувати свіжим та використати тільки один раз. Змішати без піноутворення**	18-25°C	**5 годин**

10.2. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ (ручна версія)

10.2.1. Підготовка COMT розчину ферменту

СОМТ ферментний розчин повинен бути свіже приготованим перед використанням.
Розчиніть кожний компонент набору ліофілізованим СОМТ в 1,25 мл бідистильованої води та змішати розчинений СОМТ. * Потім прокапати 1,25 мл коензимного розчину, потім 1,25 мл ферментного буфера та 0,40 мл СОМТ добавки для змішаних флаконів СОМТ, щоб отримати кінцевий об'єм 4,15 мл СОМТ ферментного розчину на флакон.) Об'єднайте 3 флакони для 48 визначень адреналіну та 48 визначення норадреналіну та 48 визначень допаміну. Розчин може бути мутним. Змішати без спінювання. Розчин СОМТ стабільний при кімнатній температурі впродовж 1 години.
 * Якщо потрібен лише аліквот розчину СОМТ, решту розчину СОМТ слід негайно заморозити в аліквотах при - 20 ° С. Розчин СОМТ стабільний при цих умовах протягом 1 -2 місяців.

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

Якщо піпетування з позитивним зміщенням подає залишкову рідину з наконечника піпетки назад у відповідні лунки екстракційної пластини, інакше екстракти можуть бути недостатніми для визначення інших аналітів . Корисно тримати екстрактивну пластину у похилому положенні. Перед використанням мікропланшетів визначте і позначте лунки для адреналіну, норадреналіну та допаміну .

10.2.3. Для дослідження використання гомогенатів тканин та супернатантів клітинної культури загальні рекомендації можуть бути надані:

робота з клітинною культурою супернатантів залежить від матриці, а також очікуваних концентрацій: відповідно до протоколу сечі (екстракція принаймні 20 мкл супернатанту) чутливість до адреналіну 0,3нг / мл, для норадреналіну 0,6 нг / мл, а для дофаміну - 5 нг / мл для розведеної проби може бути очікувана. В випадку матриці з додаванням сироватки (ФКС), плазмовим протоколом (екстракція 500 мкл супернатанту) може бути використана з чутливістю, що відповідає протоколу в плазмі (див. 16. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ). Для гомогенатів тканин для гомогенізації не слід використовувати перхлорну кислоту. Для отримання додаткової інформації зверніться до IBL.

10.2.4. Адреналін для сечі та плазми

1. Прокапайте 75мкл свіжоприготованого комбінованого ферментного розчину СОМТ у кожну лунку мікропланшета. Струсніть планшет коротко.
2.Прокапайте 100 мкл кожного екстрагованого Стандарту, Контролю та зразка у відповідні лунки. Під час цього кроку тримайте наконечники піпетки безпосередньо в розчині СОМТ. Колір зміниться до рожевого кольору. Струсніть коротко.
3. Прокапайте 50мкл адреналіну (зеленого кольору) у кожну лунку.
4. Покрийте клейкою фольгою Інкубуйте 120 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв).

10.2.5. Норадреналін для сечі та плазми.

1. Прокапайте 25мкл свіжоприготованого комбінованого ферментного розчину СОМТ в кожну лунку мікропланшета. Струсіть пластину коротко.
2. Прокапайте 25 мкл кожного екстрагованого Стандарту, Контролю та зразка у відповідні лунки. Під час цього кроку тримайте наконечники піпетки безпосередньо в розчині СОМТ. Колір зміниться до рожевого кольору. Струсити пластину коротко
3. Прокапайте 50мкл норадреналіну анти сироватки (синього кольору) у кожну лунку.
4. Покрийте планшет з клейкою фольгою Інкубуйте 120 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв).

10.2.6. Допамін для сечі та плазми

1. Прокапайте 75мкл свіжоприготованого комбінованого ферментного розчину СОМТ в кожну лунку мікропланшету. Струсіть коротко.
2. **Для сечі**: Прокапайте 100мкл 1:51 попередньо розведеного екстрагованого стандарту, контролю та зразків сечі у відповідні лунки. Під час цього кроку тримайте наконечники піпетки безпосередньо в розчині СОМТ. Колір змінюється на рожевий. Коротко струсити.

 Для плазми: Прокапайте 100 мкл 1: 51 попередньо розведеного екстрагованого стандарту, контролю та нерозбавленого екстрагованого зразка плазми у відповідні лунки. Під час цього кроку тримайте наконечники піпетки безпосередньо в розчині СОМТ. Колір змінюється до рожевого. Струсіть коротко.

3. Прокапайте 50мкл дофаміну антисироватки (фіолетового кольору) у кожну лунку.
4. Покрийте пластину з клейкою фольгою Інкубуйте 120 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв) .

10.2.7. ІФА

Наступна процедура повинна бути виконана для адреналіну, норадреналіну та допаміну.
1. Видаліть клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промивайте планшет 6 х з 250 - 300 мкл розбавленого промивного буфера. Вийміть надмірний розчин, натиснувши перевернутою пластиною на паперовий рушник.
2. Прокапайте 100мкл свіжоприготованого ферментного кон'югату в кожну лунку.
3. Покрийте пластину новою плівкою. Інкубуйте 60 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв)
4. Видаліть клейку фольгу. Видаліть інкубаційний розчин. Промивайте планшет 6 х з 250 - 300 мкл розбавленого вакуумного буфера. Видаліть надмірний розчин, постукавши перевернутим планшетом об паперовий рушник.
5. Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо доступна, 8-канальну мікропіпетку. Піпетування слід проводити в ті ж часові інтервали для субстрату та стоп розчину. Використовуйте позитивне заміщення та уникайте утворення повітряних бульбашок.
6. Прокапайте 200мкл ПНФФ розчину субстрату у кожну лунку.
7. Інкубуйте 40 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) (без клейкої фольги) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв) .
8. Зупиніть реакцію субстрату, додаючи до кожної лунки 50 мкл стоп розчину ПНФФ. Коротко змішуйте вміст, обережно похитуючи пластину
9. Вимірюють оптичну густину фотометром при 405 нм (референтна довжина хвилі: 620-650 нм) протягом 60 хвилин після піпетування стоп-розчину. Не повинно бути видимих повітряних бульбашок.

11. АВТОМАТИЗОВАНА ПРОЦЕДУРА

11.1. ІНСТРУКЦІЇ ПО ПЕРЕДТЕСТОВІЙ УСТАНОВЦІ (автоматизована версія)

Вміст комплекту для вимірювань 3 х 96 можна розділити на 2 окремі прогони.

Видимі кількості гелю можна відокремити від поверхні екстракційної пластини під час екстракції. Це не впливає на результати випробувань.

Забруднення повітря перекисом , що міститься в дезінфікуючих засобах для очищення поверхонь або обладнання, яке використовується в якості порошку або у вигляді розчинів, наприклад VIRKON® слід уникати в будь-якому випадку. Воно буде сильно порушувати результати аналізу. VIRKON® є торговою маркою DuPont.

11.1.1. Розведення зразків

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

зразок	До розведення	з	зауваження
Плазма	Вищого стандарту	Бідистильована вода	Перед кроком екстракції
Сеча	Вищого 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 зразка сечі та 750 мкл кожного зразка 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 клейкою фольгою. Екстрагувати 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Під час екстракції поверхня рідини повинна змочити клейову фольгу, але рівень рідини не повинен перевищувати 2/3 лунки. Бризки не впливають на результат.

4.Видаліть клейову фольгу. Негайно опорожніть планшет і видаліть залишкову рідину на паперовому рушнику.

5. Прокапайте в кожну лунку 2 мл бідистильованої води .

6. Покрийте пластину з новою плівкою. Струсіть 5 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (600-900 об / хв). Бризки не впливають на результат.

7. Видаліть клейку фольгу. Негайно опорожнити пластину 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. 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 пластину і видалити залишкову рідину на паперовому рушнику. Видалити рідину повністю.

11. Прокапати 2 мл бідистильованої води в кожну лунку.

12.Покрити новою плівкою. 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 опорожнити пластину та видаліть залишкову рідину на паперовому рушнику. 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).

Підготовлені зразки слід аналізувати того ж дня. Якщо це неможливо, ви можете зберігати екстракційну пластину, закриту клейовою фольгою при 2-8 ° C протягом ночі.

Важливо для вимірювання дофаміну

Розведення екстрагованого стандарту, контролю повинно бути виконано перед піпетуванням в лунки мікропланшета в додаткових пробірках. Попередньо розведіть зразки сечі.

Тому розбавте всі екстраговані стандарти, контролі та зразки сечі 1:51 з буфером вивільнення в одноразових пробірках (тобто 10 мкл екстрагованих зразків + 500 мкл буфера вивільнення). Екстраговані зразки плазми не потребують цього попереднього розведення.

11.1.3. Підготовка концентрованих компонентів.

	Обсяги, наведені нижче, для одного прогону з 3 х 6 стрипів (3 х 48 визначень)						
Розвести/ розчинити	компонент	з	розчинник	співвідношення	зауваження	зберігання	стабільність
75 мл	**WASHBUF CONC**	675 мл	Бідистильована вода	1:10	Змішати ретельно	2-8°C	4 тижні
380 мл	**ENZCONJ CONC**	19 мл	**WASHBUF (розведений)**	1:51	Приготувати свіжим і використати одразу. Змішати без піноутворення	18-25 °C	5 годин

11.2. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ (автоматизована версія)

11.2.1. Підготовка СОМТ ферментного розчину.

Ферментний розчин СОМТ повинен бути свіжоприготований безпосередньо перед використанням. Розчиніть компонент кожного комплекту ліофілізованого СОМТ у 1,25 мл бідистильованої води та змішати розчинений СОМТ. * Потім прокапати 1,25 мл коензимного розчину, потім 1,25 мл ферментного буфера та 0,40 мл СОМТ добавки для змішаних флаконів СОМТ, щоб отримати кінцевий об'єм 4,15 мл комбінованого ферментного розчину на флакон.)Об'єднати флакони для 48 визначень адреналіну та 48 визначень норадреналіну та 48 визначень дофаміну. Розчин може бути мутним. Змішати без спінювання. Розчин СОМТ стабільний при кімнатній температурі впродовж 1 години.

* Якщо потрібен лише аліквот розчину СОМТ, решту розчину СОМТ слід негайно заморозити в аліквотах при -20 ° С. Розчин СОМТ стабільний при цих умовах протягом 1 -2 місяці.

11.2.2. Для дослідницького 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), можна очікувати чутливість до адреналіну 0,3нг / мл, норадреналіну 0,6 нг / мл та допаміну 5 нг / мл для розведеної проби. В разі матриці з додаванням сироватки (ФКС), плазмовим протоколом (екстракція 500 мкл супернатанту) може бути використана з чутливістю, що відповідає протоколу плазми (див. 16. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ). Для гомогенатів тканин для гомогенізації не слід використовувати перхлорну кислоту. За додатковою інформацією звертайтеся до IBL.

11.2.3. Ферментативна дериватизація зразків, стандартів та контролів (мікропланшет)

11.2.4. Адреналін для сечі та плазми

1. Прокапайте 75мкл свіжоприготованого комбінованого ферментного розчину СОМТ в кожну лунку мікропланшета. Струсіть 1 хв.
2. Прокапайте 100 мкл кожного екстрагованого Стандарту, Контролю та зразка у відповідні лунки. Струсіть 1 хв.
3. Прокапайте 50мкл адреналіну антисироватки (зеленого кольору) у кожну лунку.
4. Покрийте пластину. Інкубуйте 120 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв).

11.2.5. Норадреналін для сечі та плазми

1. Прокапайте 25мкл свіжоприготованого СОМТ ферментного розчину у кожну лунку мікропланшета. Струсити планшет 1 хв.
2. Прокапайте 25 мкл кожного екстрагованого Стандарту, Контролю та зразка у відповідні лунки. Струсити пластину 1 хв.
3. Піпетуйте 50 мкл норадреналіну (синього кольору) у кожну лунку.
4. Покрийте пластину. Інкубуйте 120 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв).

11.2.6. Допамін для сечі та плазми

1. Прокапайте 75 мкл свіжоприготованого СОМТ ферментного розчину у кожну лунку мікропланшета. Коротко струсити
2. **Для сечі:** Прокапайте 100мкл 1:51 попередньо розведеного екстрагованого Стандарту, Контролю та зразку сечі в відповідні лунки.
Під час цього кроку тримайте наконечники піпетки безпосередньо в розчині СОМТ. Колір зміниться до рожевого кольору. Струсити пластину коротко
Для плазми: прокапати 100мкл 1:51 попередньо розведених екстрагованих стандартів, контролів та нерозбавленої екстракції зразка плазми у відповідні лунки.
Під час цього кроку тримайте наконечники піпетки безпосередньо в розчині СОМТ. Колір зміниться до рожевого кольору. Струсити пластину 1 хв.
3. Прокапайте 50 мкл анти сироватки дофаміну (фіолетового кольору) у кожну лунку.
4. Покрийте з клейкою фольгою. Інкубуйте 120 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° С) на орбітальному шейк ері (400-600 об / хв).

11.2.7. ІФА

Для адреналіну, норадреналіну та дофаміну необхідно провести наступну процедуру.

1. Видаліть інкубаційний розчин. Промити пластину 6 х з 250-300 мкл розбавленого промивного буфера.
2. Прокапайте 100 мкл ферментного кон'югату в кожну лунку.
3. Покрити пластину. Інкубуйте 60 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв).
4. Видаліть інкубаційний розчин. Промити пластину 6 х з 250-300 мкл розбавленого мийного буфера.
5. Піпетування слід проводити у ті ж тимчасові інтервали для субстрату та стоп розчину.
6. Прокапайте 200 мкл розчину ПНФФ субстрату у кожну лунку.
7. Інкубуйте 40 хвилин при кімнатній температурі (18-25 ° C) на орбітальному шейкері (400-600 об / хв). Якщо температура в автоматі перевищує 25 ° C, скоротити час інкубації до 30 хв, щоб уникнути переповнення сигналу.
8. Зупиніть реакцію субстрату, додавши в кожну лунку 50 мкл ПНФФ стоп-розчину. Коротко змішайте вміст, акуратно струшуючи пластину.
9. Вимірювати оптичну густину фотометром при 405 нм (референтна довжина хвилі: 620-650 нм) в межах 60 хвилин після піпетування стоп-розчину.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати випробувань дійсні лише тоді, коли тест було виконано відповідно до інструкцій. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватися правил GLP (належної лабораторної практики) або порівнянних стандартів / законів. Користувач і / або лабораторія повинна мати перевірену систему для отримання діагнозу згідно з GLP. Всі контролі повинні бути знайдено в межах прийнятного діапазону, як зазначено 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 проблеми: Дата закінчення терміну придатності (підготовлених) реактивів, умови зберігання, піпетки, пристрої, умови інкубації та способи промивки.

13. РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані ОГ стандартів (ось y, лінійні) наносяться навпроти їх концентрації (вісь x, логарифмічна) або на напівлогарифмічному графічному папері, або за допомогою автоматизованого методу. Гарна відповідність забезпечується кубічним способом

сплайн, 4 параметрів Logisitcs або Logit-Log.

Для розрахунку стандартної кривої застосовують кожен сигнал стандартів.

Концентрація адреналіну, норадреналіну та дофаміну в наборі Контролів та зразках сечі

в нг / мл можна прочитати безпосередньо з відповідної стандартної кривої.

Результати для адреналіну та норадреналіну в зразках плазми в нг / мл повинні бути розділені на 25. Цей коефіцієнт корекції реагує на різницю обсягу, необхідного під час екстракції (20мкл стандарти і 500 мкл плазми для ручної версії та 30 мкл стандартів проти 750 мкл плазми для автоматизованої версії)

Результати дофаміну в зразках плазми повинні бути розділені на 1275. Цей коефіцієнт поправки відповідає відмінності, зазначеній під час процедури вилучення, і 1:51 попереднього розведення стандартів.

Для перетворення з нг/мл до пг / мл, будь ласка, помножте на 1000.

У випадку розведених зразків значення повинні бути помножені з відповідним фактором розведення.

Зразки, що показують концентрації вище найвищого стандарту, повинні бути розбавлені, як описано в ПРЕТЕСТОВІЙ ІНСТРУКЦІЇ з УСТАНОВКИ,.

Обчислити 24-годинну екскрецію для кожного зразку сечі: мкг / 24г = мкг / л х л / 24г

Конверсія:

1000 пг / мл = 1 нг / мл

адреналін (мкг / л) х 5,458 = нмоль / л

Норадреналін (мкг / л) х 5.911 = нмоль/л

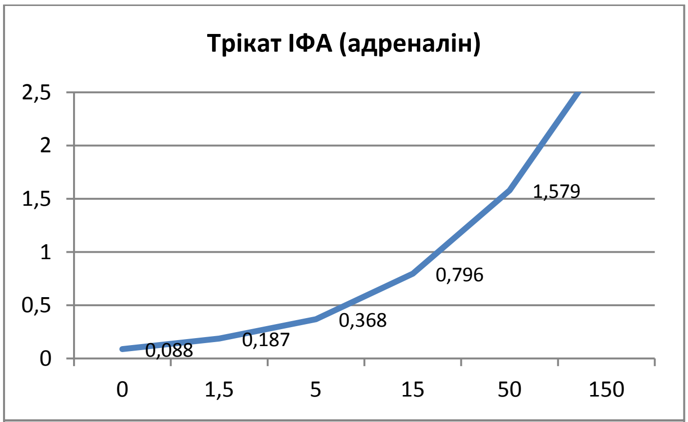
дофамин (мкг/л) х 6.528 = нмоль/л

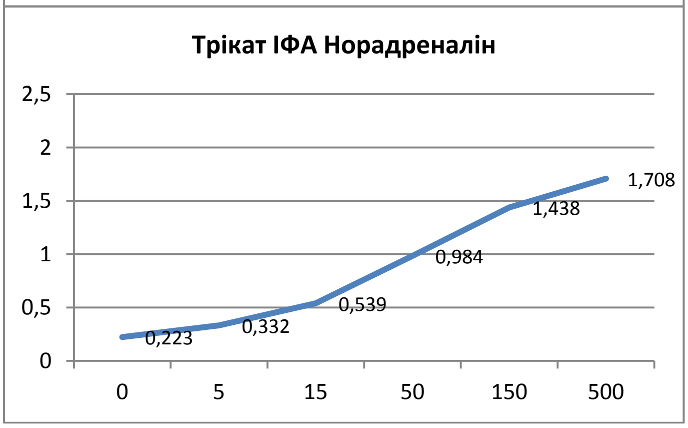
Типова калібрувальна крива (приклад Не використовуйте для розрахунку!)

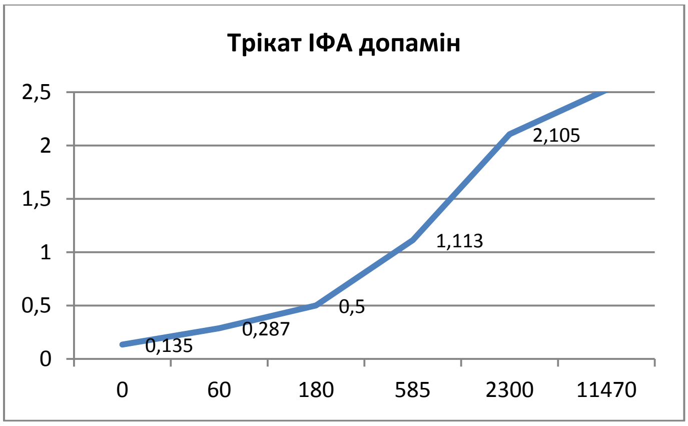
стандарт	Адреналин (нг/мл)	ОГ (среднє)	ОГ/ОГ середнє (%)
A	0.0	0.088	3.1
B	1.5	0.167	5.8
C	5.0	0.368	12.8
D	15	0.796	27.8
E	50	1.579	54.8
F	150	2.881	100

стандарт	норадреналін (нг/мл)	ОГ (среднє)	ОГ/ОГ середнє (%)
A	0	0,223	0,00
B	5	0,322	6,7
C	15	0,539	21,3
D	50	0,984	51,2
E	150	1,438	81,8
F	500	1,708	100

стандарт	норадреналін (нг/мл)	ОГ (среднє)	ОГ/ОГ середнє (%)
A	0	0,135	0,00
B	60	0,287	6,4
C	180	0,500	15,3
D	585	1,113	41,0
E	2300	2,105	82,5
F	11470	2,522	100







14. Очікувані значення

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

	сеча		плазма	
	Мкг/д	Нмоль/д	Пг/мл	Нмоль/л
адреналін	< 20	< 110	< 125	< 0,68
Норадреналін	< 90	< 535	< 600	< 3,55
допамін	< 600	< 3917	< 100	< 0,65

15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Збір та зберігання зразків призначень мають значний вплив на результати випробувань. Див. "Збір зразків і зберігання» для деталей. Для перехресної реактивності див. РЕЗУЛЬТАТИВНІСТЬ. Наступні компоненти крові не мають суттєвого ефекту (+/- 20% очікуваного) на результати випробувань до вказаних нижче концентрацій:

гемоглобін 2,0 мг / мл

білірубіну 1,0 мг / мл

тригліцерид 91 мг / мл

16. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

Аналітична специфічність (перехресна реактивність)	субстанція	адреналін	норадреналін	допамін	Перехресна реактивність інших субстанцій аналізована <0,5%
	адреналін	100	<0,02	<0,05	
	норадреналін	<0,4	100	<0,05	
	допамін	<0,1	<0,02	100	
	метанефрин	<0,1	<0,002	<0,05	
	норметанефрин	<0,1	<0,005	<0,05	
	3-MT	<0,1	<0,002	<0,05	
	L-DOPA	<0,1	<0,01	<0,05	
Аналітична чутливість (межа виявлення)	адреналін	сеча	0,2 нг/мл	Середній сигнал (нульовий стандарт)+2СВ	
		плазма	8 пг/мл		
	норадреналін	сеча	0,6 нг/мл		
		плазма	20 пг/мл		
	допамін	сеча	5 нг/мл		
		плазма	4 пг/мл		
точність			Діапазон (нг/мл)	CV (%)	
В аналізі	адреналін	сеча	5,0-64,3	8,7	
		плазма	0,046-1,060	6,8	
	норадреналін	сеча	16,0-256	7,3	
		плазма	0,560-12,38	7,4	
	допамін	сеча	37-1549	7,0	
		плазма	0,046-1,402	10,9	
Між аналізами	адреналін	сеча	5,2-74,5	12,1	
		плазма	0,051-0,979	15,2	
	норадреналін	сеча	15,4-391,5	12,1	
		плазма	0,569-1,945	12,5	
	допамін	сеча	47-990	10,8	
		плазма	0,213-1,055	16,3	
лінійність			Діапазон (нг/мл)	Серійне розведення до	Діапазон (%)
	адреналін	сеча	2,7-114,6	1:32	85-105
		плазма	0,002-0,837	1:32	76-120
	норадреналін	сеча	5,1-423	1:32	85-115
		плазма	0,02-8,2	1:32	89-111
	допамін	сеча	141-5732	1:32	87-114
		плазма	0,04-1,3	1:16	100-135
	Ефект високої дози не виявлено				
відтворюваність			Середня(%)	Діапазон (%)	% відтворюваності після збагачення
	адреналін	сеча	95	85-106	
		плазма	100	85-120	
	норадреналін	сеча	100,9	81-116	
		плазма	97,5	83-111	
	допамін	сеча	101,5	89-113	
		плазма	91	70-113	
Метод порівняння з HPLC	адреналін	IBL=0.91xHPLC+14.0; r=0.969; n=120			
	норадреналін	IBL=0.75xHPLC +4.8; r=0.945; n=134			
	дофамін	IBL=1.06xHPLC-0.154 ; r=0.985; n=90			

17. КОРОТКИЙ ПРОТОКОЛ TRICAT (адреналін, норадреналін і допамін) ІФА

Загальний час аналізу приблизно 7 годин
Зразок ЕДТА плазми, сеча
Екстракція і ацилювання
Стандарти, контролі та зразки сечі 20 мкл (Автоматична версія 30 мкл)
Зразки плазми 500 мкл (Автоматична версія 750 мкл) Додавання бідистильованої води до стандартів,
Контролів та зразків сечі 500 мкл (Автоматична версія 750 мкл)
Екстракційний буфер 1 мл
Інкубація 30 хв; кімнатна температура; на орбітальному шейкері (600-900 об / хв.)
Промивка з бідист. Водою 2 мл
Інкубація 5 хв;кімнатна температура; на орбітальному шейкері (600-900 об / хв)
Екстракційний буфер 150 мкл
Ацилюючий реагент 50 мкл
Інкубація 20 хв; кімнатна температура; на орбітальному шейкері (400-600 об / хв)
Промивання з бідист. водою. 2 мл
Інкубація 5 хв; кімнатна температура; на орбітальному шейкері (600-900 об / хв).
Буфер вивільнення 300 мкл (Автоматична версія: 450 мкл)
Інкубація 30 хв; кімнатна температура; на орбітальному шейкері (400-600 об / хв)
Екстракційна пластина може зберігатись протягом ночі при температурі 2-8 ° C

Тільки для допаміну:

попереднє розведення екстрагованих стандартів, контролю та зразків сечі з буфером вивільнення в окремих пробірках 10 мкл+500 мкл

Зразки зараз готові для ІФА

Мікропланшет процедура			
	адреналін	**норадреналін**	**допамін**
COMT ферментний розчин	**75 мкл**	**25 мкл**	**75 мкл**
Попередньо екстрагований дофамін стандарти, контролі та зразки сечі	**-**	**-**	**100 мкл**
Екстраговані дофамін зразки плазми (без попереднього розведення)	**-**	-	**100 мкл**
Екстраговані стандарти, контролі та зразки (сеча і плазма)	**100 мкл**	**25 мкл**	**-**
антисироватка	**50 мкл (зелений)**	**50 мкл (синій)**	**50 мкл (фіолетовий)**
інкубація	**120 хв , КТ, на орбітальному шейк ері (400-600 об/хв.)**		
промивка	**6х300 мкл**		
Ферментний кон'югат	**100 мкл**		
субстрат	**200 мкл**		
інкубація	**40 хв (30 хв автоматизована версія) КТ, на орбітальному шейк ері (400-60 об/хв.)**		
Стоп розчин	**50 мкл**		
Вимірювання оптичної густини	**На протязі 60 хв при 405 нм/620-650 нм**		

18 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 IФA. 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 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