

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

Генеральный Директор
ЗАО «БиоХимМак»

От _____ № _____



Тамм Н.Е.

2012г.

Иммуноферментный набор реагентов для количественного определения С-пептида в сыворотке плазмы крови и моче человека (гепарин или цитрат).
Производитель IBL International GMBH, Германия.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор С-пептид предназначен для количественного определения С-пептида человека. Данный набор предназначен только для диагностики in vitro и не может использоваться в диагностических и профилактических целях.
Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ОПИСАНИЕ

С-пептид (молекулярная масса 6000 Да) синтезируется β -клетками поджелудочной железы как компонент полипептида проинсулина, состоящего из 86 аминокислотных остатков (1, 2, 3). При ферментном расщеплении проинсулина образуется инсулин и С – пептид (молекулярная масса 3000 Да). С-пептид поступает в кровоток в эквимольном количестве. С – пептид, связывающий пептид, назван так, потому что он соединяет А и В цепи инсулина в пределах молекулы проинсулина (1, 2, 3, 4). С-пептид человека состоит из 31 аминокислотного остатка, молекулярная масса составляет примерно 3000 Да. С-пептид не обладает метаболическими функциями. Но так как С-пептид и инсулин секретируются в эквимольном количестве, определение уровня С-пептида с использованием иммуноферментного анализа позволяет оценить уровень синтеза инсулина (4, 5, 6). Это - причина клинического интереса к определению С-пептида в сыворотке крови и моче. Кроме того, оценка уровней С-пептида с использованием метода ИФА имеет ряд преимуществ, в сравнении с определением содержания инсулина. Время полужизни С-пептида в кровообращении в два - пять раз больше, чем время полужизни инсулина (7). Поэтому, концентрация С-пептида является более устойчивым маркером уровня синтеза инсулина, чем быстро изменяющийся уровень инсулина. Существенным практическим преимуществом измерения С-пептида является его относительная метаболическая инертность в сравнении с инсулином, поэтому уровни С-пептида в периферической венозной крови приблизительно в 5-6 раз больше, чем уровни инсулина (3). Кроме того, в сравнении с определением уровня инсулина определение содержания С-пептида имеет еще одно существенное преимущество – возможность отличать эндогенный инсулин от введенного. Таким образом, низкие уровни С-пептида могут определяться при снижении концентрации инсулина (например, у больных с инсулинозависимым диабетом) или подавлении его синтеза (как физиологичный ответ на введение экзогенного инсулина). Тогда как повышение уровня С-пептида может быть связано с активацией β - клеток, например в инсулиномах (3, 6, 9). С-пептид также может быть использован как дополнительный тест для оценки толерантности к глюкозе, например при проведении теста на глюкозу с введением глибенкламида (2, 9, 10). Во всех случаях, определение уровней С-пептида является более точным методом для оценки синтеза эндогенного инсулина, чем определение инсулина в периферической крови. Определение концентрации С-пептида можно проводить, как в сыворотке/плазме крови, так и в моче (9). Улучшение чувствительности ИФА метода позволило определять содержание С-пептида при чрезвычайно низких концентрациях.

Клиническое значение С-пептида: диагностика инсулиномы и дифференцировка от искусственно вызванной гипогликемии после удаления поджелудочной железы, оценка жизнеспособности клеток островков Лангерганса при трансплантации (11, 12, 13). Недавно клинические показания существенно

ены, определение С-пептида можно использовать для выявления инсулиновой зависимости на этапе сахарного диабета.

ния к определению

остаточной функции β -клеток у пациентов с сахарным диабетом при терапии инсулином.

ление и мониторинг фазы ремиссии у пациентов с сахарным диабетом I типа.

пительный тест для дифференциальной диагностики инсулина I типа и инсулина II типа
ого диабета.

ние искусственной гипогликемии, вызванной инсулином.

пительный тест для диагностики инсулиномы (тест на подавление синтеза инсулина).

зование в качестве прогностического теста для оценки течения беременности и развития плода у
н с сахарным диабетом.

уровня синтеза инсулина у пациентов с заболеваниями печени

ринг течения послеоперационного периода у пациентов после удаления поджелудочной железы

ЦИП МЕТОДА

тест основан на методе твердофазного иммуноферментного «сэндвич» анализа с
зованием конкурентного связывания. Предназначен для количественного определения
трации С-пептида. В тест-системе используются мышиные антитела, иммобилизованные на
юк микропланшета, которые связываются с моноклональными антителами к специфичным
ным детерминантам С-пептида. Эндогенный С-пептид, содержащийся в тестируемых образцах,
ирует с конъюгатом С-пептид – пероксидаза хрена за связывание с антителами, фиксированными
лунок микропланшета. После инкубации для удаления несвязанного конъюгата лунки планшета
закот. Количество связавшегося конъюгата пероксидазы хрена обратно пропорционально
ству С-пептида в тестируемых образцах. После промывки в лунки микропланшета добавляют
п/хромоген, что при наличии ферментного комплекса приводит к развитию желтого
ивания, интенсивность которого обратно пропорциональна концентрации С-пептида в
ежом образце.

ОСТЕРЕЖЕНИЯ

предназначен только для диагностики *in-vitro* и только для профессионального использования.
содержит материалы человеческого и/или животного происхождения. Источники человеческой
тки были протестированы методами, одобренными FDA, на содержание поверхностного
на гепатита В (HBsAg), антителам к вирусу гепатита С (HCV), вирусу иммунодефицита человека
(HIV), и для всех тестов были получены отрицательные результаты. Так как ни один из известных
не гарантирует полностью отсутствие инфекционных агентов, со всеми компонентами,
щими материалы человеческого происхождения, и образцами пациентов необходимо
ться как с потенциально инфекционно опасными материалами.

началом анализа полностью и тщательно прочитайте данную инструкцию. Используйте
ьную версию инструкции. Убедитесь, что вы полностью поняли инструкцию.

планшет содержит «ломаемые» стрипы в рамке – держателе. Неиспользуемые стрипы
димо хранить при 2-80С в металлизированном пакете с осушителем.

го чтобы избежать искажений, вызванных различием во времени инкубации все реагенты
димо вносить в лунки микропланшета в одинаковом порядке и с одинаковой максимально
кной скоростью.

зуйте отдельные емкости для каждого реагента. Это особенно важно для емкости для субстрата.
зование ванночки для субстрата, в которой до этого находился раствор конъюгата, может
ти к окрашиванию раствора субстрата. Не сливайте реагенты из ванночек обратно во флаконы,
с это может привести к загрязнению реагентов!

лучения хороших результатов тщательно перемешивайте содержимое лунок микропланшета. Не
зуйте лунки повторно.

воляйте лункам высыхать во время тестирования, вносите реагенты немедленно после
ения промывки.

агенты перед использованием должны достичь комнатной температуры 20-250С. Температурные
ия инкубации могут влиять на величину ОП, тем не менее, на результаты анализа они влияния не
закот.

естируйте в темноте.

есть или курить в месте, где хранятся реагенты и образцы или в месте, где проводится анализ. юте с образцами и реагентами пользуйтесь резиновыми или латексными перчатками для защиты кробная контаминация реагентов или тестируемых образцов может привести к получению их результатов.

вание проводите в соответствии с национальными требованиями по биологической ности.

льзуйте реагенты с истекшим сроком годности.

агенты вносите в объеме, указанном в настоящей инструкции. Точные результаты могут быть ы только при использовании откалиброванных пипеток и протестированного ланшетного ридера.

ивайте реагенты из разных лотов. Пожалуйста, не смешивайте стрипы из разных ланшетов, даже если они из одного лота. Условиях хранения и транспортировки наборов могут ься, что может привести к существенной разнице связывающих характеристик лунок стрипов. йте контакта со стоп - раствором, содержащим 0,5 М H_2SO_4 . Может быть причиной ения, ожога кожи и слизистых оболочек.

ые реагенты содержат в качестве консерванта проклин 300, BND и/или MIT. При попадании ов на глаза или кожу, немедленно промойте большим количеством воды.

бстрат обладает раздражающим эффектом на кожу и слизистые оболочки. При попадании ов на глаза или кожу, немедленно промойте большим количеством воды. Промойте инированный объект перед использованием. В случае вдыхание реагента, выйдите на свежий

и реагентами необходимо обращаться как с потенциально биологически опасными алами, соблюдая все правила техники безопасности.

ее подробной специфической информации обращайтесь к листу данных по безопасности и/или нтации по безопасности.

АСНОСТЬ:

оте с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 529205-2007 «Лаборатории медицинские. ания безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп нности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций».

ь неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СП 2.1.7.728-99 ла сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений», МУ 287-113 нфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

НТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

т	Набор 96 тестов
очный микропланшет, дно лунок которого покрыто мышиными антителами.	1 планшет
арты (0-5), 1 мл, готовы к использованию;	6 флаконов
нтрации С-пептида в диапазоне 0-16 нг/мл. Стандарты калиброваны по енсным материалам NIBSC 84/510, одобренным ВОЗ (см. раздел «Контроль гва»). Содержит консервант без ртути (см. раздел «Подготовка реагентов»).	
ыворотка, 7 мл, готова к использованию, содержит моноклональные антитела к С-пептиду. Содержит консервант без ртути.	1 флакон
ентный конъюгат биотина и моноклональных мышиных антител к С-пептиду, , готов к использованию. Содержит консервант без ртути.	1 флакон
ентный комплекс, конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена птавидин-HRP), готов к использованию, 14 мл. Содержит консервант без ртути.	1 флакон
витель образцов, готов к использованию, 3 мл. Содержит консервант без ртути.	1 флакон
ратный раствор (тетраметил-бензидин), готов к использованию, 14 мл,	1 флакон
раствор (0.5 М H_2SO_4), готов к использованию, 14 мл. Избегайте попадания - раствора на кожу и слизистые оболочки. Может быть причиной раздражения и .	1 флакон
ентрат буфера для промывок, 40х, 30 мл, см. раздел «Подготовка реагентов»	1 флакон

не: Дополнительный разбавитель образцов поставляется по запросу.

ОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

ованные пипетки

ованные пипетки одноканальные переменного объема с одноразовыми наконечниками

анальные пипетки переменного объема с одноразовыми наконечниками

ка для реагентов для использования с многоканальной пипеткой

ованные стаканы и цилиндры, необходимые для приготовления реактивов

или автоматическое промывающее устройство

планшетный ридер с фильтром на 450 нм, при возможности, фильтром сравнения 620 нм

лированная или деионизированная вода

метровая бумага или программное обеспечение для обработки результатов (линейная регрессия)

НИЕ РЕАГЕНТОВ

ытые реагенты стабильны при 2°C- 8°C в течение всего срока хранения, указанного на этикетке

Не используйте реагенты с истекшим сроком годности. Оставшиеся реагенты и

льзованные стрипы микропланшета необходимо хранить при 2-80C. Стрипы храните в плотно

ом металлизированном пакете с осушителем. Открытые компоненты набора стабильны в течение

ь при соблюдении условий хранения. Только при соответствующем хранении и исключении

инации во время предыдущего использования набора гарантируется качественная работа

ов.

ТОВАЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

проведением анализа нагрейте реагенты до комнатной температуры и разведите буфер для

ки. Если в концентрате буфера образовались кристаллы, аккуратно нагрейте их так, чтобы они

гью растворились.

рты

те содержимое каждой пробирки со стандартом в 750 мкл

пированной/деионизированной воды (6 стандартов). Внимание: Разведенные стандарты

ны в течение 3 дней при 2-80C. Для более длительного хранения заморозьте при -200C.

для промывок

те содержимое флакона (30 мл) концентрата буфера для промывок дистиллированной водой

л) в мерном цилиндре до конечного объема 1200 мл. Перемешайте, избегая вспенивания.

енный раствор для промывок стабилен в течение 2 недель при комнатной температуре.

И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

ческая сыворотка, ЭДТА, гепариновая или цитратная плазма могут быть использованы для

и данным методом. Не используйте для анализа сильно гемолизированные или липемичные

ы и образцы, содержащие азид натрия.

бразцов

отка:

бразцов крови должен проводиться по стандартной методике венепункции (например, с

зованием Sarstedt Monovette # 02.1388.001). Оставьте пробирку для образования сгустка и

те сыворотку центрифугированием. Не проводите центрифугирования при неполном

вании сгустка. Внимание: у пациентов, получающих антикоагулянтную терапию, время

вания сгустка больше.

и:

ю кровь соберите в центрифужную пробирку, содержащую антикоагулянт, и сразу же ее

фугируйте (например, для гепаринизированной плазмы используйте Sarstedt Monovette –

вая крышка - # 02.165.001; для цитратной плазмы Sarstedt Monovette – зеленая крышка - #

001.).

те мочу, выделенную за сутки, в один контейнер, хорошо перемешайте. Для проведения анализа

те небольшой объем суточной мочи, центрифугируйте образец для его очищения.

не: образцы можно хранить при 2-80С, при сборе образцов необходимо отметить и общее
 тво собранной суточной мочи.

не и подготовка образцов

тка/плазма:

проводите в максимально короткие сроки после отделения сыворотки. Образцы можно хранить
 ильнике при 2-80С в течение суток, или при – 200С в течение более длительного срока (до 1
 плотно закрытых пластиковых пробирках. После оттаивания образцов аккуратно их потрясите.
 те повторного размораживания и оттаивания образцов (при необходимости алиquotируйте).

ы можно хранить в холодильнике при 2-80С в течение 36 часов или при – 200С в течение более
 ного срока (до 1 года) в плотно закрытых пластиковых пробирках.

ние образцов

нцентрация С-пептида в тестируемом образце выше таковой в калибраторе с самым высоким
 анием С-пептида, необходимо развести образец с использованием разбавителя образцов и
 о провести анализ. При подсчете концентрации необходимо учитывать фактор разведения.

ер:

деление 1:10: 10 мкл образца + 90 мкл разбавителя образцов (аккуратно перемешайте)

деление 1:100: 10 мкл разведенного 1:10 образца + 90 мкл разбавителя образцов (аккуратно
 шайте)

ы мочи

проведением анализа разведите образцы мочи 1:20 разбавителем образцов.

КОЛ АНАЛИЗА

ые замечания

использованием все компоненты должны достичь комнатной температуры (20-250С). Аккуратно
 йте все реагенты без образования пены.

полнении анализа стандарты, контроли и образцы необходимо вносить как можно быстрее. Для
 бы избежать искажений, вызванных различием во времени инкубации, ферментный конъюгат,
 гный комплекс, раствор субстрата и стоп-раствор необходимо вносить в лунки микропланшета в
 овом порядке и с одинаковой скоростью.

зуйте новые одноразовые наконечники для внесения каждого образца, контроля и реагента для
 ращения перекрестной контаминации.

на ОП зависит от времени и температуры инкубации. Перед началом анализа рекомендовано
 вить все реагенты, снять крышки с пробирок и установить в рамку – держатель необходимое
 тво стрипов. Это позволит проводить внесение реагентов и образцов без прерывания.

сего протекание ферментной реакции прямо зависит от времени и температуры инкубации.

ение анализа

кдом проведении анализа необходимо строить калибровочную кривую.

овите в рамку – держатель необходимое количество стрипов.

ите с использованием одноразовых наконечников по 100 мкл стандартов, контролей и
 емых образцов в соответствующие лунки.

ите во все лунки по 50 мкл антисыворотки.

ите во все лунки по 100 мкл ферментного конъюгата. Аккуратно перемешайте в течение 10

На данном этапе анализа хорошее перемешивание реагентной смеси является важным.

бируйте в течение 60 минут при комнатной температуре (18 - 250С).

е окончания инкубации аспирируйте содержимое лунок и промойте лунки 3 раза, используя по
 и буфера для промывок на лунку на один цикл промывки. Аккуратно постучите микропланшетом
 тровальной бумаге для полного удаления жидкости.

ние: Для получения точных результатов хорошее промывание лунок микропланшета является
 ым фактором.

ите во все лунки по 100 мкл ферментного комплекса.

бируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 250С).

е окончания инкубации аспирируйте содержимое лунок и промойте лунки 3 раза, используя по
 и буфера для промывок на лунку на один цикл промывки. Аккуратно постучите микропланшетом
 тровальной бумаге для полного удаления жидкости.

сите во все лунки по 100 мкл субстратного раствора.

кубируйте в течение 20 минут при комнатной температуре (18 - 250C)
 бавьте во все лунки по 100 мкл стоп-раствора
 мерьте оптическую плотность при 450 нм не позднее чем через 10 минут после внесения стоп-
 ра (длина волны сравнения ≥ 590 нм, например, 620 нм).

РЕЗУЛЬТАТОВ

лите среднее значение ОП для каждого стандарта, контроля и тестируемого образца. Отклонение
 ий ОП от среднего не должно быть более 20%.

зую графическую бумагу, отметьте точки измеренных значений ОП стандартов на вертикальной
 а соответствующие концентрации С-пептида на горизонтальную ось X. Проведите оптимальную
 ю по точкам.

ределения концентрации С-пептида в тестируемых образцах сначала найдите соответствующее
 е значение ОП на оси ординат, затем проведите перпендикулярную оси прямую линию
 онтально) до пересечения с калибровочной кривой. Из точки пересечения проведите
 альную линию до пересечения с абсциссой и определите соответствующее значение
 атрации С-пептида.

калибровочной кривой желательно выполнять с помощью соответствующего программного
 чения, так как обычная калибровочная кривая (без соответствующей трансформации) не линейна.
 строения калибровочной кривой обычно могут быть использованы полиномы более высокой
 и или четырехпараметрическая логистическая (4-PL) регрессия, или нелинейная регрессия
 н, построение от точки к точке).

итрацию С-пептида в тестируемых образцах необходимо определять непосредственно по
 оовочной кривой. В образцах, в которых ОП выше ОП стандарта 5 (то есть, вне калибровочной
 и), определение концентрации С-пептида может дать неточные результаты. Необходимо повторно
 тировать данные образцы при большем разведении с учетом фактора разведения.
 р типичной калибровочной кривой

представлен пример калибровочной кривой. Не используйте для подсчета результатов при
 ении анализа. Калибровочную кривую необходимо строить при каждом проведении анализа!

Стандарт	Оптическая плотность (450 nm)
Стандарт 0 (0 нг/мл)	1,82
Стандарт 1 (0,2 нг/мл)	1,64
Стандарт 2 (0,7 нг/мл)	1,46
Стандарт 3 (2,0 нг/мл)	1,02
Стандарт 4 (6,0 нг/мл)	0,47
Стандарт 5 (16 нг/мл)	0,21

ОЖИДАЕМЫЕ НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

екомендовано каждой лаборатории разработать свои собственные ожидаемые нормальные и
 лические результаты.

льзованием тест-системы C-peptide IBL International GMBH были определены следующие
 ясные значения концентрации С-пептида у взрослых здоровых лиц:

	n	$\Sigma \pm 2SD$
отка (после 12- го голодания)	60	0,5 – 3,2 нг/мл
		1 – 200 мкг/день

еление тактики лечения пациентов только на основании результатов определения уровней С-
 да недопустимо. Необходимо учитывать все имеющиеся клинические и диагностические данные.

РОЛЬ КАЧЕСТВА

ветствии с «хорошей лабораторной практикой» при каждом проведении анализа необходимо
 ь калибровочную кривую и тестировать контроли. Рекомендовано использовать национальные
 ждународные программы оценки качества, позволяющие гарантировать точность результатов.
 ьно проанализировать достаточное количество контрольных образцов, чтобы определить
 ий уровень и допустимые значения, позволяющие контролировать правильность проведения

а. Для анализа уровней в контрольных материалах используйте соответствующие статистические методы. Используйте контроли с нормальными и патологическими уровнями. Характеристики контрольных материалов представлены в сертификате контроля качества, вложенном в набор. Уровни в контрольных материалах и допустимые значения всегда соответствуют лоту набора. Уровни в контрольных материалах не укладываются в допустимый диапазон, результаты анализа полученных образцов могут быть неточными. В случае обратите внимание на следующие технические особенности проведения анализа: калибровка, время инкубации, настройка фотометра, срок годности реактивов, хранение и условия транспортировки, качество промывки.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА И ВАЛИДАЦИЯ

Диапазон определяемых значений

Система C-peptide IBL International GMBH позволяет определять концентрацию С-пептида в диапазоне 0.06 – 16 нг/мл.

Внутрисерийная реактивность

Отсутствует клинически значимой перекрестной реактивности с интактным проинсулином.

Чувствительность

Чувствительность метода IBL C-peptide ELISA составляет < 0,064 нг/мл (два стандартных отклонения при тестировании 20 повторов нулевого стандарта).

Воспроизводимость

Между сериями

Воспроизводимость внутри серии представлена ниже:

Повтор	n	Среднее (нг/мл)	CV(%)
1	20	0.48	6.54
2	20	2.30	6.70
3	20	3.86	5.13

Внутри серии

Воспроизводимость между сериями представлена ниже:

Повтор	n	Среднее (нг/мл)	CV(%)
1	12	0.42	9.33
2	12	2.05	9.92
3	12	4.23	8.38

Извлечение

Пробы были обогащены при добавлении раствора с известным содержанием С-пептида (отношение 1:1). Ожидаемые значения были вычислены следующим образом: 1/2 концентрации С-пептида в введенном образце + 1/2 концентрации С-пептида в обогащающем растворе. Процент извлечения был рассчитан при умножении отношения измеренных концентраций к ожидаемым, на 100.

Сыворотка	Эндогенный С-пептид (нг/мл)	Добавленный С-пептид (нг/мл)	Измеренная конц. (нг/мл)	Ожидаемая конц. (нг/мл)	Извлечение (%)
1	5.36	0.00	5.36		
		8.00	10.31	10.68	96.6
		3.00	5.57	5.68	98.0
		1.00	3.63	3.68	98.7
		0.35	3.08	3.03	101.8
2	9.70	0.00	9.70		
		8.00	12.49	12.85	97.2
		3.00	8.23	7.85	104.8
		1.00	5.15	5.85	87.9
		0.35	4.54	5.20	87.2
3	12.12	0.00	12.12		

		8.00	15.52	14.06	110.4
		3.00	9.72	9.06	107.3
		1.00	7.30	7.06	103.4
		0.35	5.65	6.41	88.1
Моча	Эндо-генный С-пептид (нг/мл)	Добавл енный С-пептид (нг/мл)	Измере нная конц. (нг/мл)	Ожидае мая конц. (нг/мл)	Извле-чение (%)
1	2.1				
		8.0	10.9	10.1	107.9
		3.0	5.57	5.1	109.2
		1.0	2.6	2.62	99.2
2	9.70				
		8.0	9.2	9.01	102.1
		3.0	4.03	4.01	100.5
		1.0	2.2	2.01	109.5
3	12.12				
		8.0	10.1	10.5	96.2
		3.0	5.3	5.5	96.4
		1.0	3.8	3.5	108.6

НОСТЬ

Образец (сыворотка)	Разведение	Измеренная конц. (нг/мл)	Ожидаемая конц. (нг/мл)	Извле-чение (%)
1	Неразв.	6.10	6.10	
	1:2	3.25	3.05	106.7
	1:4	1.61	1.52	105.3
	1:8	0.84	0.76	110.6
	1:16	0.41	0.38	107.6
2	Неразв.	9.90	9.90	
	1:2	5.59	4.95	112.8
	1:4	2.48	2.48	100.3
	1:8	1.29	1.24	104.0
	1:16	0.69	0.62	111.8
3	Неразв.	13.25	13.25	
	1:2	6.97	6.62	105.1
	1:4	3.22	3.31	97.1
	1:8	1.70	1.66	102.8
	1:16	0.85	0.83	103.1

Образец (моча)	Разведение	Измеренная конц. (нг/мл)	Ожидаемая конц. (нг/мл)	Извле-чение (%)
1	Неразв.	8.7	8.7	
	1:2	4.29	4.35	98.6
	1:4	2.01	2.18	92.4
	1:8	1.09	1.09	100.2
2	Неразв.	9.2	9.2	
	1:2	4.7	4.6	102.2
	1:4	2.25	2.3	97.8
	1:8	1.12	1.15	97.5
3	Неразв.	13.9	13.9	

	1:2	6.6	6.95	95.0
	1:4	3.3	3.48	95.0
	1:8	1.8	1.74	103.6

НИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

началом анализа полностью и тщательно прочитайте данную инструкцию. Используйте
ную версию инструкции. Убедитесь, что вы полностью поняли инструкцию. Любое изменение
ики проведения анализа может привести к искажению результатов. Производитель IBL
tional GmbH не несет ответственности и не принимает претензий за любые потери и повреждения,
ошедшие из-за несоблюдения данной инструкции.

ференция

обин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0.5 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не оказывают
твенного влияния на результаты анализа.

ие лекарственных препаратов

стоящего времени лекарственных препаратов, влияющих на результаты определения С-пептида, в
уемых образцах не обнаружено.

эффект большой концентрации

я тест-система гарантирует отсутствие hook-эффекта.

ические аспекты

жность результатов

из должен быть выполнен в соответствии с инструкцией изготовителя. Кроме того, пользователь
н строго придерживаться правил хорошей лабораторной практики или других принятых
нальных стандартов и/или законов. Это особенно важно при использовании контрольных
иалов.

ельно проанализировать достаточное количество контрольных образцов, чтобы определить
ий уровень и допустимые значения, позволяющие контролировать правильность проведения
а. Если уровни в контрольных материалах не укладываются в допустимый диапазон, результаты
а тестируемых образцов могут быть неточными.

ка лечения

о тактики лечения никогда не должен проводиться на основании одних только лабораторных
татов, даже если все результаты анализа являются адекватными. Результат анализа - только часть
пула клинических и лабораторных данных о клиническом состоянии пациента. Решение о тактике
я пациента должны приниматься при тщательном анализе всех полученных данных.
еление тактики лечения пациентов только на основании результатов определения уровней С-
да недопустимо.

тственность

е изменение протокола анализа или использование компонентов набора различных лотов может
сти к получению неточных результатов.

РАТУРА

глийский вариант инструкции.

просам качества продукции обращаться по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, ЗАО

«ИмМак»

акс (495) 647-2740 (многоканальный),

info@biochemmack.ru

ЛАСОВАНО

афедрой клинической лабораторной

остики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России,

профессор

Долгов В.В.
Удостоверяю:
Подпись
20 12 года

Всего прошито
и пронумеровано

9 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

Тамм Н.Е.



ВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

№ _____

Генеральный Директор
 ЗАО «БиоХимМак»
 Тамм Н.Е.
 2012г.



Иммуноферментный набор реагентов для количественного определения СА 72-4 в
 человеческой сыворотке и плазме (СА 72-4 ELISA).
 Производитель «IBL International GmbH», Германия.

ВВЕДЕНИЕ

Назначение

Набор реагентов СА 72-4 ELISA предназначен для количественного определения СА 72-4 (CA 72-4) в сыворотке и плазме крови человека.
 Только для *in vitro* диагностики.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Метод основан на последовательном взаимодействии иммобилизованных и меченных пероксидазой антител с молекулами онкомаркера СА 72-4 на твердой фазе, отмывки не связанных компонентов и количественной его оценки по интенсивности окрашивания субстрата. Величину абсорбции измеряют после остановки реакции на длине волны: 450 нм и референс: 620 нм длинах волн планшетного спектрофотометра.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.

Для более полной информации об опасных веществах, входящих в состав набора, обращайтесь к паспорту безопасности данных для данного набора.

Все реагенты данного набора, содержащие сыворотку или плазму человека, были протестированы и определены как отрицательные для HIV I/II, HBsAg и HCV. Однако, реагенты необходимо рассматривать как потенциальную биологическую угрозу.

Избегать контакта со стоп раствором, содержащим 0.5 М H₂SO₄. Это может вызвать раздражение кожи и ожоги.

не пипетировать ртом и избегать контакта реагентов и образцов с кожей и слизистыми оболочками.

Не курить, не пить, не использовать косметику во время работы с образцами и реагентами набора.

Проводить анализ рекомендуется в одноразовых перчатках. Попадание инфекции в реагенты и образцы может привести к ошибочным результатам.

Соблюдайте меры предосторожности. Анализ необходимо проводить в соответствии с правилами национальной биологической безопасности.

Обращайте внимание на номер лота и срок хранения.

Все указанные значения необходимо выполнять в соответствии с инструкцией набора. Для более оптимальных результатов анализа можно достичь путем использования калиброванных пипеток.

Не используйте реагенты из разных наборов. Рекомендуется не смешивать лунки различных планшет даже из одного лота. Наборы хранились в различных условиях во время транспортировки, поэтому характеристики связывания планшет могут показать различный результат.

В соответствии с правилами национальной безопасности, с химическими продуктами и использованными для анализа реагентами необходимо обращаться как с опасными веществами.

Сертификат безопасности данных для данного продукта имеется в наличии в DRG Diagnostics GmbH.

Сертификат безопасности данных соответствует требованиям: EU-Guideline 91/155 EC.

БЕЗОПАСНОСТЬ:

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 529205-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций».

Для неиспользованных реактивов необходимо в соответствии с требованиями СП 7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений», МУ 287-113 по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

Содержимое набора

Микротитровальные лунки, 12x8 (делимые) стрипы, 96 лунок

Лунки покрыты анти-СА 72-4 моноклональными антителами

Стандарты (0-4), 5 флаконов по 0,5 мл, готовы к использованию

20, 50, 100 Ед/мл

Контроли с высоким и низким уровнем СА 72-4, 2 флакона (в лиофилизированном виде), по 0.5 мл каждый.

„Подготовка реагентов“

тельные значения и диапазоны указаны на этикетке флакона или в сертификате

ржат консерванты, не содержащие ртути.

створ для разведения образцов, 1 флакон, 3 мл, готовый к использованию

рментный конъюгат, 1 флакон, 14 мл, готовый к использованию

72-4 антитела, меченные пероксидазой хрена

Подготовка реагентов“

бстратный раствор, 1 флакон, 14 мл, готовый к использованию

оп Раствор, 1 флакон, 14 мл, готовый к использованию

жигит 0.5M H₂SO₄

гать контакта со стоп раствором. Это может вызвать раздражение кожи и ожоги.

К концентрат промывочного буфера, 1 флакон, 30 мл

Подготовка реагентов“

ание: Дополнительный раствор для разведения образцов имеется в наличии и
оставляется по требованию.

Необходимые материалы, не поставляемые с набором

икропланшетный спектрофотометр (450±10 нм) (например. DRG Instruments
ропланшетный Ридер).

ные дозаторы.

льтровальная бумага.

стиллированная вода.

Кранение и стабильность набора

хранении при температуре 2-8°C реагенты сохраняют реактивность до истечения
а годности. Не рекомендуется использовать реагенты после истечения срока
ости. Все открытые реагенты необходимо хранить при температуре 2-8°C.
ротитровальные лунки должны храниться при 2-8°C. Сразу после вскрытия
гированного пакета его необходимо аккуратно запечатать.

Подготовка реагентов

ид использованием довести все реагенты и необходимое количество стрипов до
затной температуры.

троли

лить в каждый флакон с лиофилизированным контролем по 0.5 мл. дистиллированной
д, помешать и дать отстояться в течение 10 минут. Перед использованием
мешать содержимое флаконов несколько раз.

ание: Разведенные контроли необходимо разлить по аликвотам и хранить при
температуре -20°C.

мывочный раствор

вести 30 мл концентрированного промывочного раствора деионизированной водой (70 мл) до конечного объема 1200 мл.

Введенный промывочный раствор можно хранить в течение 2 недель при комнатной температуре.

Утилизация набора

Утилизацию набора необходимо проводить в соответствии с правилами национальной безопасности. Вся необходимая информация о данном продукте приводится в паспорте безопасности данных.

Поврежденные наборы

В случае сильного повреждения набора или его компонентов, необходимо в письменной форме уведомить об этом компанию DRG не позднее 1 недели после получения набора. Только поврежденные отдельные компоненты не рекомендуется использовать в ведении анализа. Их необходимо хранить до принятия окончательного решения, после чего, ликвидировать в соответствии с официальными правилами.

Отбор и хранение образцов

Для данного анализа могут быть использованы сыворотка и плазма (ЭДТА, гепарин, цитрат). Не используйте гемолизные, иктеричные или липемичные образцы.

Важное замечание: образцы, содержащие азид натрия, не могут быть использованы в данном анализе.

Забор образцов

Сыворотка:

Забирать кровь венопункцией в специальные контейнеры (например: Sarstedt Monovette # 02.388.001). Дать крови отстояться при комнатной температуре до образования плотного сгустка, отцентрифугировать ее и слить сыворотку. Образцы крови пациентов, находящихся накануне антикоагулянтной терапии, должны выстаиваться дольше.

Плазма:

Для забора цельной крови необходимо поместить в центрифужные пробирки с антикоагулянтами и отцентрифугировать сразу же после их отбора.

Для ЭДТА плазмы можно использовать Sarstedt Monovette – красный колпачок - # 02.166.001;

для гепариновой плазмы - Sarstedt Monovette – оранжевый колпачок - # 02.165.001;

для цитратной плазмы - Sarstedt Monovette – зеленый колпачок - # 02.167.001.)

Подготовка и хранение образцов

Пробирки с образцами можно хранить до проведения анализа в течение 2 дней при температуре 2 С -8 С. Для более длительного хранения (до 1 года) их необходимо заморозить до -20°C.

Разведение образцов

Замороженные образцы, показавшие значения абсорбции выше максимального значения, необходимо развести в 10 или 100 раз раствором для разведения образцов и измерить заново.

Расчет концентрации должен учитываться фактор разведения.

Пример:

Разведение 1:10: 10 мкл Сыворотки + 90 мкл раствора для разведения образцов (тщательно перемешать)

Разведение 1:100: 10 мкл раствор а) 1:10 + 90 мкл раствора для разведения образцов (тщательно перемешать)

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Основные замечания

Перед использованием все реагенты довести до комнатной температуры. Реагенты необходимо смешать без образования пены.

Рекомендуется проводить процедуру непрерывно.

Избегать контаминации реагентов, пипеток, и лунок / пробирок. Используйте новые одноразовые пластиковые наконечники для каждого реагента или образца.

Абсорбция – функция инкубационного времени и температуры. Перед началом проведения процедуры рекомендуется подготовить все реагенты, извлечь крышки, промыть лунки в ходдер и т.д. Это обеспечит непрерывное проведение каждого шага титрования.

Как правило, ферментная реакция линейно пропорциональна времени и температуре.

Проведение анализа

Стандарты, образцы и контроли должны исследоваться одновременно в дублях с тем, чтобы соблюсти одинаковые условия анализа.

Поместите необходимое количество микротитровальных стрипов в рамку-держателя. Внести по 20 мкл каждого стандарта, контроля и образцов новыми одноразовыми наконечниками в соответствующие лунки.

Добавить по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.

Тщательно перемешать содержимое лунок в течение 10 секунд. Крайне важно добиться полного их смешивания на этом этапе анализа.

Инкубировать в течение 120 минут при комнатной температуре.

Вытряхнуть содержимое лунок в раковину. Промыть лунки 5 раз разведенным мыльным буфером (по 400 µl на каждую лунку). Выстучать остатки капель из лунок жестким концом фильтровальной бумаги.

Примечание:

вительность и точность данного анализа значительно зависит от тщательного проведения процедуры промывки!

Завить по 100 мкл раствора субстрата в каждую лунку.

кубировать в течение 30 минут при комнатной температуре.

становить реакцию, добавив по 100 мкл стоп раствора в каждую лунку.

течение 10 минут после остановки реакции измерить оптическую плотность на длине волны 450 ± 10 нм микропланшетного спектрофотометра.

Подсчет результатов

Подсчитать средние значения оптической плотности для каждого набора стандартов, дуплей и образцов пациента.

Построить стандартную кривую, нанося среднее значение оптической плотности, полученной от каждого стандарта в отношении к его концентрации со значением оптической плотности на вертикальной оси (Y) и концентрации на горизонтальной оси.

Используя среднее значение каждого образца определить соответствующую концентрацию из стандартной кривой.

Автоматический метод: Компьютерные программы, использующие кубический сплайн, 4 PL (4 Parameter Logistics) или Logit-Log в общем могут дать хороший результат.

Концентрацию образцов можно считать с этой стандартной кривой. Образцы с концентрациями, превышающими самое высокое значение, требуют дальнейшего разведения. Для подсчета концентраций необходимо принимать во внимание этот фактор разведения.

Пример стандартной кривой.

Представленные ниже значения оптических плотностей протестированных стандартов приведены лишь в качестве иллюстрации и не должны подменять собой конкретных результатов ИФА, получаемых в каждой лаборатории самостоятельно.

Стандарты	Оптическая плотность (A-450 nm)
Стандарт 0 (0 Ед/мл)	0.08
Стандарт 1 (3 Ед/мл)	0.19
Стандарт 2 (20 Ед/мл)	0.59
Стандарт 3 (50 Ед/мл)	1.16
Стандарт 4 (100 Ед/мл)	2.02

Ожидаемые значения

В каждой лаборатории рекомендуется устанавливать свои собственные нормальные значения и отклоняющиеся от нормы величины. Все участвующие в исследовании здоровые люди в количестве 55 человек были отнесены к нормальному диапазону. В целом: 5 – 95перцентилей попали значения от 0 до 2.68 Ед/мл

Результаты проведенных исследований были получены следующие данные:

Популяция	Число испытуемых	Медиана (Ед/мл)	Концентрация (Ед/мл)	5 - 95 процентили (Ед/мл)
Мужчины и женщины	65	0.72	0.86	0 – 2.68

Данные в таблице вполне соответствуют установленным значениям cut-off (< 4-6 Ед/мл).

Полученные результаты ИФА следует обязательно сопоставлять с данными других диагностических методов, т.к. сами по себе они не могут служить достаточным основанием для назначения протестированным пациентам тех или иных терапевтических процедур.

Контроль качества

Рекомендуется использовать контрольные образцы в соответствии с государственными и международными положениями. Использование контрольных образцов рекомендуется для обеспечения надежности результатов. Используйте контроли на нормальном и патологическом уровнях.

Контроли и соответствующие результаты QC-Лаборатории приведены в сертификате качества, прилагаемом к набору. Значения и диапазоны так же указаны в сертификате качества, прилагаемом к данному лоту набора и должны использоваться для сравнения результатов.

Также рекомендуется использовать государственные и международные программы контроля качества с тем, чтобы обеспечить точность результатов.

Изменяйте соответствующие статистические методы для исследования контрольных серий и отклонений. Если же результаты не совпадают с установленными приемлемыми значениями контрольных материалов, результаты пациента необходимо считать как недействительные.

В том случае проверьте следующие технические параметры: точность дозирования реагентов и проб, правильность настройки фотометра и промывающего устройства, срок годности реагентов, условия хранения и инкубации.

После проверки вышеуказанных параметров, не обнаружив никаких ошибок, обратитесь к своему дистрибьютору или непосредственно в фирму-производитель.

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Динамический диапазон исследования

Диапазон исследования 0,79 – 100 Ед/мл.

Специфичность антител (Перекрестная реактивность)

было отмечено каких-либо перекрестных реакций при тестировании других белков.

Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность, рассчитанная из средней величины оптической плотности и двух стандартных отклонений (двадцати повторных анализов) тестированного нулевого стандарта, составила 0,79 Ед/мл.

Воспроизводимость

Внутренняя точность тестирования

Внутрилабораторная вариабельность данных приведена ниже

Образец	Кол-во	Среднее (Е/мл)	КВ (%)
1	20	1.4	2.2
2	20	1.6	1.6
3	20	1.6	2.4

2. Серийная точность тестирования

Вариабельность данных между разными постановками анализов приведена в нижеприведенной таблице

Образец	Среднее (Е/мл)	КВ (%)
1	1.6	12.7
2	1.6	13.9
3	3.4	13.8

Восстановление

Для оценки восстановления в образцы, содержащие СА-72-4, вносили растворы этого маркера известной концентрации в соотношении 1:1. При расчете ожидаемых концентраций аналита эндогенный и добавленный СА-72-4 суммировали и делили эту величину пополам для корректировки увеличившегося объема раствора. О восстановлении определяемого аналита судили по процентному соотношению измеренных и ожидаемых концентраций СА-72-4 (см. нижеприведенную таблицу).

		Образец 1	Образец 2	Образец 3
Концентрация [Е/мл]		3.6	8.1	9.4
Средний процент восстановления		99.3	98.2	98.8
Степень восстановления [%]	от	96.6	92.5	88.2
	до	102.1	105.8	106.8

Линейность

		Образец 1	Образец 2	Образец 3
Концентрация [Е/мл]		51.0	94.0	10.0
Средний процент восстановления		91.2	108.5	97.8
Степень восстановления [%]	от	86.3	106.4	86.0
	до	99.6	112.3	112.0

ОГРАНИЧЕНИЯ В ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОЦЕДУРЫ

1 Возможность перекрестных реакций

Отклонение от инструкции или внесение каких-либо модификаций в процедуру анализа может негативно сказаться на специфичности или чувствительности анализа. Никаких перекрестных реакций не было отмечено при тестировании этими наборами реагентов: гемоглобина (до 4 мг/мл), билирубина (до 0,5 мг/мл) и триглицеридов (до 30 мг/мл). Включение в процедуру анализа ГАМК и гетерофильных антител также не оказало заметного влияния на результаты ИФА. Тем не менее, чрезвычайно высокий титр ГАМК и гетерофильных антител может негативно сказываться на специфичности этого теста.

2 Влияние лекарственных аппаратов

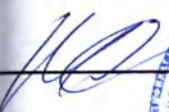
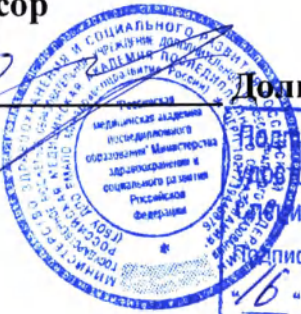
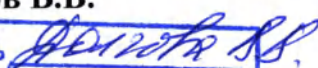
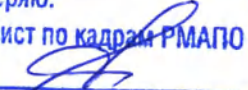
На сегодняшний день не обнаружено никаких веществ – лекарственных препаратов, влияющих на измерение СА 72-4 в образце.

3 Хук-Эффект

было отмечено какого-либо негативного воздействия на прохождение мунохимических реакций в этом тесте при введении высоких концентраций СА 72-4 вплоть до: до 6400 Ед/мл.

вопросам качества продукции обращаться по адресу: 119991, Москва, Ленинские
ы, ЗАО «БиоХимМак»
а./факс (495) 647-2740 (многоканальный),
mail: info@biochemmack.ru

ОГЛАСОВАНО»
кафедрой клинической лабораторной
гностики ГБОУ ДПО РМАПО Минздравсоцразвития России,
и.и., профессор



Долгов В.В.
Подпись 
Удостоверяю:
Специалист по кадрам РМАПО
Подпись 
"16" 10 2012 года

Всего прошито
и пронумеровано

10 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

Тамм Н.Е.



ЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

ом Росздравнадзора

Генеральный Директор
ЗАО «БиоХимМак»

№ _____

Тамм Н.Е.

2012г.



иоферментный набор реагентов для качественного и количественного определения
тител к мышечной форме рецептора тирозиновой киназы в сыворотке крови человека
-Ab ELISA.

Производитель: «IBL International GMBH», Германия.

АЧЕНИЕ

и набор MuSK-Ab ELISA предназначен для количественного и качественного определения
иной формы рецептора тирозиновой киназы в сыворотке крови человека.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ЕНИЕ

и миастении связано с нарушением нервно-мышечной передачи, обусловленной наличием
тител. Примерно у 80 - 90 % пациентов с генерализованной формой миастении определяются
титела к мышечным никотиновым рецепторам ацетилхолина. Наличие аутоантител приводит к
шению количества ацетилхолиновых рецепторов и снижению их функции, что сопровождается
ением нервно-мышечной передачи и мышечной слабостью. У 10–20 % пациентов с
лизованной формой миастении и у 50 % пациентов с глазной формой миастении, аутоантител к
тору ацетилхолина не обнаруживается. В данном случае заболевание рассматривается как
егативная миастения. Антитела к рецепторам мышечной формы тирозиновой киназы (MuSK-Ab)
ужены в сыворотке пациентов с генерализованной формой миастении (примерно у 40 %
егативных пациентов с миастенией). MuSK - часть комплекса аргининового рецептора, которая
авливает кластеринг ацетилхолинового рецептора аргинином при формировании синапса,
ессируется в зрелом нервно-мышечном синапсе (NMJ). У пациентов с миастенией,
ительных по аутоантителам MuSK, чаще всего женщин, развивается краниальная и бульбарная
миастении. У данных пациентов выше риск развития кризисов в сравнении с пациентами с
ми формами миастении. Манифестация заболевания имеет тенденцию к более раннему развитию,
инство пациентов в возрасте 30-40 лет. Измерение антител MuSK позволит проводить
ременную диагностику и адекватное лечение пациентов с миастенией [1, 5, 9, 10, 12, 15].

ПЦИП МЕТОДА

и тест основан на методе твердофазного иммуноферментного «сэндвич» анализа. Образцы
ируются в лунках микропланшета, дно которых покрыто специфическими антигенами. Антитела,
они присутствуют в тестируемом образце, связываются с антигенами и определяются
тирующей системой, усиливающей сигнал. Субстратная реакция катализируется щелочной
атазой, конъюгированной с детектирующими антителами. Интенсивность развившегося
ивания пропорциональна содержанию MuSK-Ab в тестируемом образце. Количественная или
венная оценка результатов проводится при использовании стандартной кривой или «cut-off»
оля, соответственно.

ОСТЕРЕЖЕНИЯ

р предназначен только для диагностики in-vitro и только для профессионального использования.
д началом анализа полностью и тщательно прочитайте данную инструкцию. Используйте
льную версию инструкции. Убедитесь, что вы полностью поняли инструкцию.

Выбирайте лот набора и срок его годности. Не смешивайте реагенты из разных лотов. Не используйте реагенты с истекшим сроком годности.

При работе с образцами и реагентами соблюдайте принципы «надлежащей лабораторной практики». Пользуйтесь защитной лабораторной одеждой, резиновыми или латексными перчатками для защиты

Реагенты набора содержат материалы, которые могут быть причиной раздражения кожи и слизистых оболочек. Более подробная информация представлена на сайте производителя IBL International.

Со всеми реагентами необходимо обращаться как с потенциально биологически опасными материалами, соблюдая все правила техники безопасности.

Утилизация использованных реагентов должна проводиться в соответствии с национальными требованиями по работе с биологически опасными отходами.

Избегайте контакта со стоп - раствором, содержащим 1 М NaOH. Может быть причиной раздражения, ожога кожи и слизистых оболочек.

Набор содержит материалы человеческого и/или животного происхождения. Источники человеческой сыворотки были протестированы методами, одобренными FDA, на содержание поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антителам к вирусу гепатита С (HCV), вирусу иммунодефицита человека (HIV), и для всех тестов были получены отрицательные результаты. Так как ни один из известных тестов не гарантирует полностью отсутствие инфекционных агентов, со всеми компонентами, содержащими материалы человеческого происхождения, и образцами пациентов необходимо обращаться как с потенциально инфекционно опасными материалами.

БЕЗОПАСНОСТЬ:

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 529205-2007 «Лаборатории медицинские. Правила безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций».

Неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СП 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений», МУ 287-113 «Санитарно-гигиенические требования к дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Закрытые реагенты стабильны при 2°C - 8°C в течение всего срока хранения, указанного на этикетке набора. Избегайте воздействия высоких температур и прямых солнечных лучей. Стрипы храните в оригинальном закрытом металлизированном пакете с осушителем.

ПРИ ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Человеческая сыворотка может быть использована для анализа данным методом. Сбор образцов крови должен проводиться по стандартной методике венепункции. Не используйте для анализа сильно гемолизированные, иктеричные или липемичные образцы. Мутные образцы перед проведением анализа центрифугируйте. Образцы можно хранить в холодильнике при 2-8°C в течение двух суток, или при -20°C в течение более длительного срока (до 6 года) в плотно закрытых пластиковых пробирках. Избегайте воздействия высоких температур и прямого солнечного света. Избегайте повторного размораживания и оттаивания образцов.

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

Реагент	Символ	Набор 96 тестов
Иммунопланшетный микропланшет, дно лунок которого покрыто иммобилизованными рекомбинантными MuSK.	MTP	1 планшет (12x8 стрипов)
Иммунопланшетный конъюгат, концентрат (101x). Содержит конъюгат антигена со щелочной фосфатазой, стабилизаторы.	ENZCONJ CONC	1 флакон (1x0,15 мл)
Сыворотка. Содержит антитела к антигенам человека, стабилизаторы	Antiserum	1 флакон (1x12 мл)
Контрольные образцы (А-Е), 1 мл, готовы к использованию; Концентрации MuSK-Ab 0, 0,4, 2,5, 5,0 и 12 Ед/мл. Содержат	CAL A-E	5 флаконов (5x1 мл)

К-Ab, стабилизаторы.		
Контроль. Красный раствор, готов к использованию. Содержат MuSK-Ab, стабилизаторы.	CONTROL +	1 флакон (1x1 мл)
Контроль. Зеленый раствор, готов к использованию. Содержат MuSK-Ab, стабилизаторы.	CONTROL -	1 флакон (1x1 мл)
Буфер. Красный раствор, готов к использованию. Содержит фосфатный буфер, белки и стабилизаторы.	ASSAY BUF	1 флакон (1x120 мл)
Концентрат буфера для промывок, 10x, 100 мл. Содержит фосфатный буфер и Tween.	WASH BUF CONC	1 флакон (1x100 мл)
Раствор (p-нитрофенилфосфат, PNPP), готов к использованию.	PNPP SUBS	2 флакона (2x12 мл)
Раствор (1 М NaOH, 0.25 М ЭДТА), готов к использованию.	PNPP STOP	1 флакон (1x15 мл)
Защитная пленка	FOIL	4 штуки

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Калиброванные пипетки
 Калиброванные пипетки одноканальные переменного объема с одноразовыми наконечниками
 Одноканальные пипетки переменного объема с одноразовыми наконечниками
 Пипетка для реагентов для использования с многоканальной пипеткой
 Калиброванные стаканы и цилиндры, необходимые для приготовления реактивов
 Ручное или автоматическое промывающее устройство
 Микропланшетный ридер с фильтром на 450 нм, при возможности, фильтром сравнения 620 нм
 Деионизированная или дистиллированная вода
 Программная бумага или программное обеспечение для обработки результатов (линейная регрессия)

ВНИМАНИЕ ПО ПРОВЕДЕНИЮ АНАЛИЗА

В начале анализа полностью и тщательно прочитайте данную инструкцию. Используйте последнюю версию инструкции. Убедитесь, что вы полностью поняли инструкцию. Любое изменение методики проведения анализа может привести к искажению результатов. Производитель IBL International GmbH не несет ответственности и не принимает претензий за любые потери и повреждения, произошедшие из-за несоблюдения данной инструкции.
 Пользователь должен строго придерживаться правил надлежащей лабораторной практики или других применимых национальных стандартов и/или законов. Используйте только калиброванные пипетки. Только тестирование началось, все этапы необходимо проводить без остановок. Убедитесь в наличии всех необходимых для анализа реагентов, материалов и оборудования. Перед проведением анализа дайте реагентам нагреться до комнатной температуры (18-25 °C). Аккуратно перемешивайте реагенты и тестируемые образцы перед использованием. Перемешивайте реагенты без образования пены.
 Избегайте контаминации реагентов, пипеток и лунок/пробирок. Используйте только новые пластиковые наконечники при внесении каждого нового реагента и тестируемого образца. Не меняйте крышки флаконов. Всегда плотно закрывайте флаконы с неиспользуемыми реагентами. Не используйте повторно лунки/пробирки или реагенты.
 Для контроля правильности внесения реагентов используйте схему расположения лунок и схему проведения анализа.
 Условия инкубации оказывают существенное влияние на точность результатов. Во всех лунках все анализы должны быть проведены с одинаковой продолжительностью и последовательностью. При внесении реагентов во все лунки рекомендовано использовать 8 канальные микропипетки. Промывка лунок микропланшета оказывает существенное влияние на точность результатов. Рекомендовано использовать многоканальные пипетки или автоматическое промывающее устройство микропланшет. Не допускайте высыхания лунок микропланшета между инкубациями. Избегайте соскабливания дна лунок микропланшета при промывании и аспирации растворов. Промывайте лунки микропланшета и вносите реагенты с большой аккуратностью. При промывании следите за тем, чтобы лунки микропланшета были точно заполнены буфером для промывок, и в лунках не было остатков реагента.

179

ость влияет на покрытые лунки микропланшета. Не открывайте пакет с микропланшетом до тех
ка он не нагреется до комнатной температуры. Неиспользованные стрипы необходимо сразу
в металлизированный пакет с осушителем.

ПОДГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Содержимое набора на 96 определений можно разделить на 3 различных анализа.
Реагентов, указанных ниже достаточно для проведения анализа в 4 стрипах (32 определения).
Подготовка лиофилизированных или концентрированных компонентов

Компонент	Разбавитель	Разведение	Хранение/ Стабильность
WASHBUF CONC	180 мл бидист. воды	1:10	Стабилен в течение 4 недель при 2-8 °C
ENZCONJ CONC	4 мл ASSAYBUF	1:101	Готовить непосредственно перед использованием

Внимание: Хорошо перемешать без образования пены.
Разведение образцов

Разбавитель	Буфер для разведения	Разведение	Замечание
Анти-сыворотка	ASSAYBUF (оптимально)	1:101	Например, 10 мкл + 1000 мкл Разведение желательно проводить в стеклянных пробирках.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

На каждом проведении анализа необходимо строить калибровочную кривую. Установите в рамку –
необходимое количество стрипов.

Нанесите с использованием одноразовых наконечников по 100 мкл стандартов, контролей и
тестируемых образцов в соответствующие лунки микропланшета. Закройте микропланшет
адгезивной пленкой.

Инкубируйте в течение 60 минут при комнатной температуре (18 - 250C) на орбитальном шейкере
(rpm).

После окончания инкубации аспирируйте содержимое лунок и промойте лунки 3 раза, используя по
100 мкл буфера для промывок на лунку на один цикл промывки. Аккуратно постучите микропланшетом
по фильтровальной бумаге для полного удаления жидкости.

Нанесите во все лунки по 100 мкл антисыворотки. Закройте микропланшет адгезивной пленкой.

Инкубируйте в течение 60 минут при комнатной температуре (18 - 250C) на орбитальном шейкере
(rpm).

После окончания инкубации аспирируйте содержимое лунок и промойте лунки 3 раза, используя по
100 мкл буфера для промывок на лунку на один цикл промывки. Аккуратно постучите микропланшетом
по фильтровальной бумаге для полного удаления жидкости.

Нанесите во все лунки по 100 мкл ферментного конъюгата. Закройте микропланшет адгезивной
пленкой.

Инкубируйте в течение 60 минут при комнатной температуре (18 - 250C) на орбитальном шейкере
(rpm).

После окончания инкубации аспирируйте содержимое лунок и промойте лунки 3 раза, используя по
100 мкл буфера для промывок на лунку на один цикл промывки. Аккуратно постучите микропланшетом
по фильтровальной бумаге для полного удаления жидкости.

и внесения раствора субстрата и стоп-раствора используйте, при наличии, 8 канальную пипетку. Внесение субстратного раствора и стоп-раствора необходимо проводить в одинаковой последовательности и с одинаковым интервалом. Избегайте образования пузырьков воздуха при внесении реагентов.

Внесите во все лунки по 100 мкл PNPP субстратного раствора. Аккуратно потрясите микропланшет для полного перемешивания реагентов.

Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 25°C).

Для остановки субстратной реакции добавьте во все лунки по 100 мкл PNPP стоп-раствора. Аккуратно потрясите микропланшет для полного перемешивания реагентов.

Измерьте оптическую плотность при 405 нм не позднее чем через 60 минут после внесения стоп-раствора (длина волны сравнения 600-650 нм).

РОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с «надлежащей лабораторной практикой» при каждом проведении анализа необходимо строить калибровочную кривую и тестировать контроли. Рекомендовано использовать национальные и международные программы оценки качества, позволяющие гарантировать точность результатов. Необходимо проанализировать достаточное количество контрольных образцов, чтобы определить оптимальный уровень и допустимые значения, позволяющие контролировать правильность проведения анализа. Для анализа уровней в контрольных материалах используйте соответствующие статистические методы. Используйте контроли с нормальными и патологическими уровнями.

Характеристики контрольных материалов представлены в сертификате контроля качества, вложенном в набор. Уровни в контрольных материалах и допустимые значения всегда соответствуют лоту набора. Если уровни в контрольных материалах не укладываются в допустимый диапазон, результаты анализа полученных образцов могут быть неточными.

В случае обратите внимание на следующие технические особенности проведения анализа: инкубация, время инкубации, настройка фотометра, срок годности реактивов, хранение и условия использования, качество промывки.

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценка результатов может быть проведена либо качественным, либо количественным методом.

Оценка результатов качественным методом

Вычислите среднее значение ОП в стандарте В («cut-off» стандарт). Вычислите «cut-off» индекс: среднее значение ОП тестируемого образца разделите на среднее значение ОП «cut-off» стандарта. Образцы, в которых ОП выше ОП в «cut-off» стандарте расцениваются как положительные, образцы, в которых ОП ниже – как отрицательные.

Пример:

Среднее значение ОП (стандарт В, «cut-off» стандарт) = 0.23

Среднее значение ОП тестируемом образце = 0.70

«cut-off» индекс: $0.70 / 0.23 = 3.04$.

Индекс расценивается как положительный.

Оценка результатов количественным методом

Вычислите среднее значение ОП для каждого стандарта, контроля и тестируемого образца. Отклонение значений ОП от среднего не должно быть более 20%.

Используя графическую бумагу, отметьте точки измеренных значений ОП стандартов на вертикальной оси, а соответствующие концентрации MuSK-Ab на горизонтальную ось X. Проведите оптимальную калибровочную кривую по точкам.

Для определения концентрации MuSK-Ab в тестируемых образцах сначала найдите соответствующее значение ОП на оси ординат, затем проведите перпендикулярную оси прямую линию (горизонтально) до пересечения с калибровочной кривой. Из точки пересечения проведите вертикальную линию до пересечения с абсциссой и определите соответствующее значение концентрации MuSK-Ab.

Построение калибровочной кривой желательно выполнять с помощью соответствующего программного обеспечения, так как обычная калибровочная кривая (без соответствующей трансформации) не линейна. Построения калибровочной кривой обычно могут быть использованы полиномы более высокой степени или четырехпараметрическая логистическая (4-PL) регрессия, или нелинейная регрессия (например, построение от точки к точке).

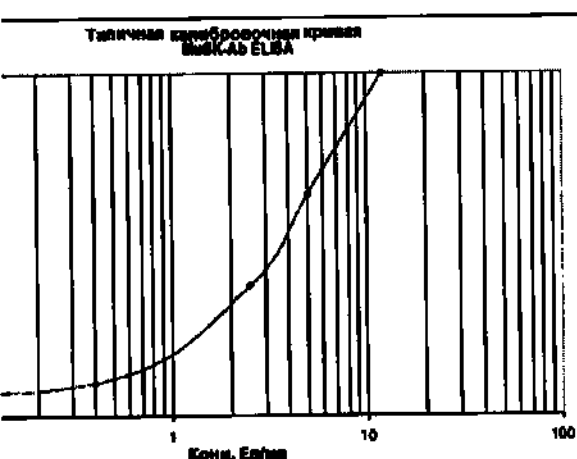
рацию MuSK-Ab в тестируемых образцах необходимо определять непосредственно по калибровочной кривой. Начальное разведение образцов было учтено при подготовке калибраторов (не умножения полученных из калибровочного графика значений на фактор разведения). Если образцы были разведены при большем разведении необходимо полученные результаты умножить на соответствующий фактор разведения.

В тех случаях, в которых ОП выше ОП стандарта Е (то есть, вне калибровочной кривой), определение концентрации MuSK-Ab может дать неточные результаты. Необходимо повторно протестировать образцы при большем разведении с учетом фактора разведения.

Ниже представлена типичная калибровочная кривая

представлен пример калибровочной кривой. Не используйте для подсчета результатов при проведении анализа. Калибровочную кривую необходимо строить при каждом проведении анализа!

Стандарт	Оптическая плотность (405 нм)
Стандарт А (0 Ед/мл)	0.056
Стандарт В (0,4 Ед/мл)	0.248
Стандарт С (2,5 Ед/мл)	1.008
Стандарт D (5,0 Ед/мл)	1.714
Стандарт Е (12,0 Ед/мл)	2.654



ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

	Диапазон	Интерпретация результатов
Положительный	>0.4 Ед/мл	Положительный
Калибровочная	<0.4 Ед/мл	Отрицательный
Положительный	> 1.0	Положительный
Отрицательный	< 1.0	Отрицательный

Выбор тактики лечения никогда не должен проводиться на основании одних только лабораторных результатов. Решение о тактике лечения пациента должны приниматься при тщательном анализе всех клинических и лабораторных данных.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

В начале анализа полностью и тщательно прочитайте данную инструкцию. Используйте самую последнюю версию инструкции. Убедитесь, что вы полностью поняли инструкцию. Любое изменение в процедуре проведения анализа может привести к искажению результатов. Производитель IBL.

182

nal GmbH не несет ответственности и не принимает претензий за любые потери и повреждения, идущие из-за несоблюдения данной инструкции.

ка сбора образцов оказывает существенное влияние на точность полученных результатов (см. соответствующий раздел). Использование азида натрия, проклина в концентрации > 1% и тимеросала в концентрации > 0,1% может быть причиной получения неточных результатов.

щие компоненты крови не оказывают существенного влияния на точность результатов (+/-20 % приемлемых значений) в концентрациях, представленных ниже:

бин	5,0 мг/мл
бин	5,0 мг/мл
ериды	91 мг/мл

ТЕСТИРОВАНИЕ

тческая специфичность (перекрестная реактивность)

ружено перекрестной реактивности с антителами к ацетилхолиновому рецептору, LEMS-Ab, (cANCA), MPO-Ab (pANCA), dsDNA-Ab, RF, AMA, ANA, CCP-Ab.

	Диапазон (Ед/мл)	Диапазон CV (%)
серии	0.22 – 3.34	3.1 – 5.8
сериями	0.25 – 3.55	8.5 – 16.8
плота (n =	0.29 – 4.29	8.4 – 16.2

ость	Серийное разведение до	Диапазон (%)
н	1:32	81.2 – 100.0

ие с методом радиоиммунного анализа		
тельная	95.8 %	n = 96
тельность		
тельная	100.0 %	n = 157
ичность		

АТУРА

ийский вариант инструкции.

осам качества продукции обращаться по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, ЗАО «МММ»

кс (495) 647-2740 (многоканальный),
info@biochemmack.ru

АСОВАННО»

федерой клинической лабораторной
тики ГБОУ ДПО РМАПО Минздравсоцразвития России,
профессор



Всего прошито

и пронумеровано

7 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

Тамм Н.Е.



Генеральный Директор
ЗАО «БиоХимМак»

№ _____

Тамм Н.Е.

2012г.



иммуноферментный набор реагентов для качественного и количественного определения
антител к IA2-GAD65 в сыворотке крови IA2-GAD65 Screen.

Производитель: «IBL International GMBH», Германия.

НАЧЕНИЕ

Этот набор IBL ELISA IA2-GAD65 Screen - твердофазный иммуноферментный «сэндвич» анализ, в котором используются рекомбинантные белки человека (антиген белка, ассоциированного с тирозиновой фосфатазой островков Лангерганса 2 (IA2) изоформа глутамат декарбоксилазы 65кДа (GAD65)) для качественного и количественного определения аутоантител к антигенам клеток островков Лангерганса в сыворотке крови человека.

Этот набор может быть использован в диагностических целях у пациентов с сахарным диабетом 1 типа.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ОПИСАНИЕ

Сахарный диабет 1 типа (СД1) - хроническое аутоиммунное заболевание, связанное с аутоиммунно опосредованным разрушением β -клеток островков Лангерганса, продуцирующих инсулин. Заболевание характеризуется значительным или полным отсутствием синтеза инсулина и наличием аутоантител к β -клеткам. Антигены, распознаваемые аутоантителами: инсулин, глутамат декарбоксилаза (изоформа GAD65 kDa) и антиген белков, ассоциированный с тирозин фосфатазой островков Лангерганса 2 (IA2). Аутоантитела к антигенам клеток островков Лангерганса - важные преคลินิกеские маркеры, так как они могут присутствовать в течение многих лет до клинической манифестации диабета а также в период, когда уровни метаболических маркеров находятся в пределах референсных значений. Результаты недавних исследований показали, что сочетанное определение антител к GAD65 и IA2 позволяет выявить более чем 90 % больных с de novo диабетом 1 типа. IBL ELISA IA2-GAD65 Screen позволяет проводить сочетанное определение аутоантител к GAD65 и IA-2. Это – прекрасный скрининговый метод для выявления лиц с высоким риском развития сахарного диабета 1 типа.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Этот тест основан на методе твердофазного иммуноферментного «сэндвич» анализа. Предназначен для качественного и количественного определения содержания IA2-GAD65. Образцы в течение ночи инкубируются в лунках микропланшета, дно которых покрыто специфическими антигенами. Антитела, присутствующие в тестируемом образце, связываются с антигенами. После инкубации для удаления несвязанных частиц лунки планшета промывают. После этого в лунки микропланшета вносят конъюгат IA2-GAD65 с биотином и проводят инкубацию. При этом аутоантитела к IA2 и/или GAD65 связываются между антигенами, иммобилизованными на дне лунок микропланшета, и конъюгатом IA2-GAD65 с биотином в жидкой фазе. Несвязанный конъюгат IA2-GAD65 с биотином удаляется из лунок микропланшета при промывании на следующем этапе анализа. Количество связанного конъюгата IA2-GAD65 с биотином определяется при добавлении конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена, который связывается с биотином. Несвязанный конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена удаляется из лунок микропланшета при промывании на следующем этапе анализа. После промывки в лунки микропланшета добавляют субстрат/хромоген, что при наличии ферментного комплекса приводит к развитию желтого окрашивания, интенсивность которого пропорциональна содержанию антител IA2-GAD65 в тестируемом образце.

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

требуют разведения.

Буфер для разведения образцов, 1 флакон, 20 мл - 5х концентрат (белая крышка: желтый раствор)	Содержит: Трис, NaCl, БСА, азид натрия < 0.1% (консервант)
Буфер для промывок, 1 флакон, 20 мл - 50х концентрат (белая крышка: зеленый раствор)	Содержит: Трис, NaCl, Твин 20, азид натрия < 0.1% (консервант)
Конъюгат IA2-GAD65 с биотином, 3 флакона, стабилизированный (белая крышка)	Содержит: Биотин, конъюгированный с рекомбинантными антигенами IA2-GAD65 человека; бычий сывороточный альбумин (БСА)

Готовые к использованию.

Буфер для разведения, 1 флакон, 20 мл (белая крышка: красный раствор)	Содержит: PBS, бычий сывороточный альбумин (БСА)
Негативный контроль, 1 флакон, 1 мл (белая крышка: бесцветный раствор)	Содержит: сыворотка человека (разведенная), азид натрия < 0.1% (консервант)
Положительный контроль, 1 флакон, 1 мл (белая крышка: желтый раствор)	Содержит: сыворотка человека (разведенная), азид натрия < 0.1% (консервант)
«Off» калибратор, 1 флакон, 1 мл (голубая крышка: желтый раствор)	Содержит: сыворотка человека (разведенная), азид натрия < 0.1% (консервант)
Калибраторы, 6 флаконов, 1 мл в каждом 0, 25, 125, 250, 500 Ед/мл (интенсивность окрашивания увеличивается с увеличением концентрации: желтый раствор)	Содержит: сыворотка человека (разведенная), азид натрия < 0.1% (консервант)
Конъюгат, 1 флакон, 15 мл (голубая крышка: бесцветный раствор)	Содержит: страптавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена; бычий сывороточный альбумин (БСА)
Стабилизированный субстратный раствор, 1 флакон, 15 мл (белая крышка)	Содержит: Стабилизированный тетраметилбензидин/H ₂ O ₂
Раствор, 1 флакон, 15 мл (белая крышка: бесцветный раствор)	Содержит: 1М соляная кислота
Микропланшет 12х8 луночных стрипов с «защитами» стрипами	Дно лунок покрыто специфическими антигенами

ПОСРЕДСТВОМ КОТОРЫХ НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Стерилизованные пипетки
Стерилизованные пипетки одноканальные переменного объема с одноразовыми наконечниками
Многоканальные пипетки переменного объема с одноразовыми наконечниками
Пипетка для реагентов для использования с многоканальной пипеткой
Стерилизованные стаканы и цилиндры, необходимые для приготовления реактивов
Система или автоматическое промывающее устройство
Спектрофотометрический планшетный ридер с фильтром на 450 нм, при возможности, фильтром сравнения 620 нм
Дистиллированная или деионизированная вода
Графическая бумага или программное обеспечение для обработки результатов (линейная регрессия)

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ РЕАГЕНТОВ

Сухие реагенты стабильны при 2°C - 8°C в течение всего срока хранения, указанного на этикетке.
Рабочий раствор биотинового конъюгата IA2-GAD65 необходимо использовать в течение суток после приготовления. Все остальные рабочие реагенты стабильны в течение 1 месяца после приготовления при 2°C - 8°C.

Используйте реагенты и микропланшет с истекшим сроком годности. Избегайте воздействия прямых солнечных лучей на ТМБ раствор. Стрипы микроплшета храните в плотно закрытом стабилизированном пакете с осушителем.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

предназначен только для диагностики in-vitro и только для профессионального использования. К с данным набором могут быть допущены только операторы, обладающие соответствующей подготовкой по лабораторным методикам с соблюдением принципов «надлежащей лабораторной практики».

Компоненты набора не являются высокотоксичными или опасными при их правильном использовании, но при работе с ними надо соблюдать максимальную аккуратность.

Реагенты обладают потенциальным раздражающим эффектом на кожу и слизистые оболочки. При работе с реагентами пользуйтесь резиновыми или латексными перчатками для защиты рук.

ВНИМАНИЕ! Калибраторы, контроли и буферы содержат в качестве консерванта азид натрия (NaN_3). Выпадение азид натрия может вызвать раздражение кожи и слизистых оболочек. При контакте с медью канализационных труб азид натрия может образовывать взрывчатые азидные соединения. При выливании реагентов в канализацию смывайте их большим количеством проточной воды. При утилизации реагентов используйте международные и региональные/национальные рекомендации.

Не ешьте или курите в месте, где хранятся реагенты и образцы или в месте, где проводится анализ. Стирайте в прохладном месте.

Набор содержит материалы человеческого и/или животного происхождения. Источники человеческой крови были протестированы методами, одобренными FDA, на содержание поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С (HCV), вирусу иммунодефицита человека (HIV), и для всех тестов были получены отрицательные результаты. Так как ни один из известных тестов не гарантирует полностью отсутствие инфекционных агентов, со всеми компонентами, содержащими материалы человеческого происхождения, и образцами пациентов необходимо обращаться как с потенциально инфекционно опасными материалами.

БЕЗОПАСНОСТЬ:

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 529205-2007 «Лаборатории медицинские. Общие требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп опасности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций».

Неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СП 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений», МУ 287-113 «Правила дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Рекомендации по работе с реагентами

Извлекайте реагенты из разных лотов. Не смешивайте стрипы из разных микропланшетов, даже если они из одного лота.

Реагенты перед использованием должны достичь комнатной температуры 20-25°C. Для получения точных результатов, рекомендовано четко соблюдать условия инкубации.

Важно: при использовании автоматических систем рекомендовано проводить анализ при 30°C. Не нагревайте реагенты выше 37°C.

Вносите субстратный раствор новыми наконечниками. Избегайте воздействия на субстрат прямых солнечных лучей. Никогда не пипетируйте субстратный раствор наконечниками, которые ранее использовались для внесения других реагентов.

Поставка диагноза никогда не должна проводиться на основании одних только лабораторных данных, если все результаты анализа являются адекватными. Результат анализа - только часть всего пула клинических и лабораторных данных о клиническом состоянии пациента. Решение о постановке диагноза должно приниматься при тщательном анализе всех полученных клинических и лабораторных данных.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сывороточная сыворотка может быть использована для анализа данным методом. Сбор образцов крови должен проводиться по стандартной методике венопункции. Не используйте для анализа сильно гемолизированные, гемолизированные или липемичные образцы и образцы с признаками бактериальной контаминации. Оставьте пробирку с образцом крови для образования сгустка и отделите сыворотку центрифугированием. Анализ проводите в максимально короткие сроки после отделения сыворотки.

можно хранить в холодильнике при 2-8°C в течение суток, или при -20°C в течение более длительного срока в плотно закрытых пластиковых пробирках.

ПОДГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Обратите внимание, что реагенты необходимо готовить непосредственно перед использованием.

Используйте концентрированные реагенты:

Используйте концентрат буфера для разведения образцов 1:5 дистиллированной водой (например, 20 мл концентрата + 80 мл).

Используйте концентрат буфера для промывок 1:50 дистиллированной водой (например, 20 мл плюс 980 мл).

Для исключения ошибок промаркируйте крышки пробирок с различными калибраторами.

Обратите внимание:

Используйте образцы сыворотки 1:4 буфером для разведения образцов (1х). Например, 225 мкл буфера для разведения образцов (1х) + 75 мкл сыворотки. Хорошо перемешайте!

Используйте и разведите конъюгат IA2-GAD65 с биотином:

Используйте лиофилизат конъюгата IA2-GAD65 с биотином в два этапа: Сначала внесите 1 мкл буфера для разведения в 1 флакон с конъюгатом. Оставьте флакон на 5 минут и хорошо перемешайте для полного растворения конъюгата. Убедитесь, что на крышке флакона не осталось лиофилизированного конъюгата. Затем перенесите 1 мл растворенного конъюгата в 5 мл буфера для разведения и хорошо перемешайте. Одного флакона с растворенным конъюгатом достаточно для проведения анализа в 6 стрипах. Если за один раз используется большее количество стрипов, используйте и разведите, как показано выше, содержимое двух флаконов с конъюгатом. Объедините и хорошо перемешайте!

Промывка:

Используйте 20 мл разведенного буфера для промывок (1х) на 8 лунок (стрип) или 200 мл на 96 лунок. Например, 4 мл концентрата плюс 196 мл дистиллированной воды.

Математическая промывка:

Используйте дополнительный объем буфера, требуемый для заполнения магистралей промывающего устройства и «мертвый» объем пипеток прибора.

Полная промывка:

Используйте для удаления содержимого лунок. Переверните планшет и промокните лунки на чистую впитывающую бумагу/бумажное полотенце для удаления остатков реагентов. Промойте лунки, используя по 300 мкл Буфера для промывок на лунку в один цикл промывки. Полностью повторите процедуру промывки еще 2 раза.

Сушка планшета:

Используйте требуемое для проведения анализа число стрипов. Неиспользованные стрипы храните в пакете с осушителем при 2-8°C. Поместите требуемое количество стрипов в держатель. Верните неиспользованные стрипы в пакет с осушителем и поместите в холодильник.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

При внесении калибраторов и контролей, а также общая схема анализа представлена в приложении. При каждом проведении анализа необходимо строить калибровочную кривую. Рекомендовано проводить анализ в дублях. «Cut-off» калибратор используется только для качественного определения результатов.

Поместите в рамку – держатель необходимое количество стрипов.

Используйте в соответствующие лунки микропланшета по 100 мкл тестируемых образцов.

Используйте в соответствующие лунки микропланшета по 100 мкл калибраторов, «cut-off» калибратора, положительного и отрицательного контролей.

Инкубируйте в течение ночи (16-20 часов) при 2 - 8°C.

После инкубации дайте реагентам и микропланшету нагреться до комнатной температуры в течение 5 минут.

Промойте лунки микропланшета 3 раза, используя по 300 мкл буфера для промывок (разведенного) на лунку на один цикл промывки.

Используйте во все лунки микропланшета по 100 мкл конъюгата IA2-GAD65 с биотином (растворенного и лиофилизированного).

кубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 250C).
мойте лунки микропланшета 3 раза, используя по 300 мкл буфера для промывок (разведенного
на лунку на один цикл промывки.
сите во все лунки микропланшета по 100 мкл конъюгата.
кубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 250C).
мойте лунки микропланшета 3 раза, используя по 300 мкл буфера для промывок (разведенного
на лунку на один цикл промывки.
сите во все лунки микропланшета по 100 мкл ТМБ субстратного раствора.
кубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 250C) в темноте.
бавьте во все лунки микропланшета по 100 мкл стоп-раствора в той же последовательности, что
зовалась при внесении ТМБ субстратного раствора.
кубируйте в течение как минимум 5 минут при комнатной температуре (18 - 250C).
курратно покачайте микропланшет в течение 5 секунд.
мерьте оптическую плотность при 450 нм не позднее чем через 30 минут после внесения стоп-
ра (длина волны сравнения ≥ 590 нм, например, 620 нм).

КА РЕЗУЛЬТАТОВ КОЛИЧЕСТВЕННЫМ И КАЧЕСТВЕННЫМ МЕТОДОМ

результатов количественным методом
ценки результатов количественным методом вычислите среднее значение ОП для каждого
ратора. Используя графическую бумагу, отметьте точки измеренных значений ОП калибраторов
тикальной оси Y, а соответствующие концентрации антител IA2-GAD65 на горизонтальную ось
ведите оптимальную кривую по точкам. Для построения калибровочной кривой обычно может
использована четырехпараметрическая логистическая (4-PL) регрессия (log/lin). За счет
поляции значений ОП на калибровочную кривую определите концентрацию антител IA2-GAD65
ируемых образцах.

ательные ния	Положительные значения
Ед/мл	> 30 Ед/мл

ер типичной калибровочной кривой

представлен пример калибровочной кривой. Не используйте для подсчета результатов при
дении анализа. Калибровочную кривую необходимо строить при каждом проведении анализа!

Калибратор	ОП 450/620 нм	CV% (коэффициент вариации)
0	0.148	5.6
1	0,276	3.2
2	0.499	2.9
3	0.768	4.7
4	1.496	0.9
5	2.627	2.1

ер расчетов

Результат	ОП (дубль)	ОП (среднее)	Результат (Ед/мл)
76.2	0.499/0.463	0.481	76.2
258.4	1.494/1.496	1.495	258.4

получения более полной информации - см. вкладыш по контролю качества. Медицинские
латории могут использовать собственные контрольные материалы и/или пул международных
ольных сывороток, утвержденный Европейскими регуляторными документами. Рекомендовано
ой лаборатории разработать свои собственные ожидаемые нормальные и патологические
пытаты, основанные на собственном практическом опыте (использованное оборудование, методика
едения анализа) и групп обследованных пациентов.

нка результатов качественным методом

ценки результатов качественным методом считайте ОП «cut-off» калибратора и тестируемых образцов.
ОП в тестируемых образцах с ОП «cut-off» калибратора. Все тестируемые образцы, в которых ОП «cut-off» калибратора рассматриваются как положительные, образцы, в которых ОП ниже ОП «cut-off» калибратора – как отрицательные.
Отрицательные значения: ОП тестируемого образца < ОП «cut-off» калибратора
Положительные значения: ОП тестируемого образца > ОП «cut-off» калибратора

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тестируемые образцы: сыворотка крови
Объем тестируемого образца: 75 мкл образца, разведенного 1:4 1х буфером для разведения образцов
Время инкубации: 16-20 часов при 2-8°C и 90 минут при 18-25°C
Диапазон калибровки: 0-500 Ед/мл
Аналитическая чувствительность: 6 Ед/мл
Температура: 2-8°C, используйте только оригинальные флаконы.
Количество определений: 96 тестов

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

Аналитическая чувствительность
Использованием набора IBL ELISA IA2-GAD65 Screen протестирован буфер для разведения образцов (повторов) и 8 отрицательных образцов (8 повторов). Аналитическая чувствительность метода составила 6 Ед/мл.

Специфичность и чувствительность

Микропланшета покрыто рекомбинантными белками человека (антиген белка, связанного с тирозиновой фосфатазой островков Лангерганса 2 (IA2) изоформа глутамат оксидилазы 65кДа (GAD65)). Не обнаружено перекрестной реактивности с другими антигенами. Диагностическая специфичность Islet Cell Screen составила 100%, диагностическая чувствительность 98%.

Линейность
Тестируемые сыворотки были протестированы с использованием данного набора, проведена оценка линейности при их разведении. Из-за гетерогенности аутоантител человека существует вероятность того, что в ряде тестируемых образцов линейность будет отсутствовать.

Фактор разведения	Измеренная концентрация (Ед/мл)	Ожидаемая концентрация (Ед/мл)	Извлечение (%)
1/4	204.30	204.30	100
1/8	95.97	102.15	106.4
1/16	45.86	51.08	111.4
1/32	22.31	25.24	114.5
1/4	80.18	80.18	100
1/8	35.42	40.09	113.2
1/16	19.45	20.05	103.1
1/32	10.78	10.02	92.9

Воспроизводимость
Определения точности метода в трех образцах сывороток была оценена воспроизводимость результатов (внутри и между-сериями).

При серии

Среднее (Ед/мл)	CV(%)
6.8	11.1
54.2	7.6

225.8	4.3
-------	-----

сериями

Среднее (нг/мл)	CV(%)
8.5	10.9
32.5	5.8
185.3	4.2

овка

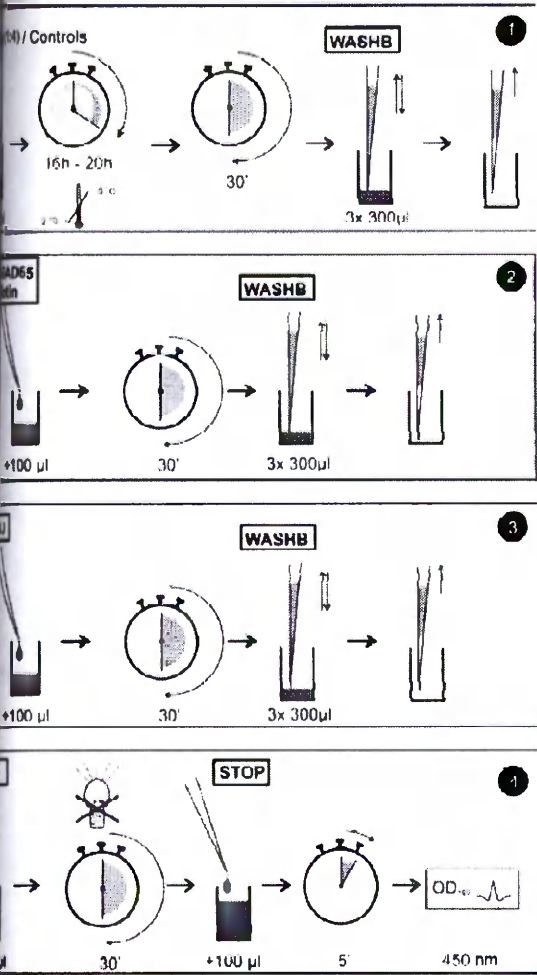
отсутствуют международные референсные материалы для калибровки набор калиброван по
ым единицам (Ед/мл).

ОЖЕНИЕ

рная схема внесения калибраторов, контролей и тестируемых образцов представлена ниже.
енке результатов количественным методом используйте калибровочную кривую, построенную
чениям ОП в калибраторах.
енке результатов качественным методом используйте «cut-off» калибратор.

	2	3	4	6	6	7	8	9	10	11	12
лА	КалЕ	ТО1			Контр-	ТО2	ТО2				
лА	КалЕ	ТО1			Контр-	ТО2	ТО2				
лВ	КалF	ТО2			Кал«cut-off»	ТО3	ТО3				
лВ	КалF	ТО2			Кал«cut-off»	ТО3	ТО3				
лС	Контр+	ТО3			Контр+						
лС	Контр+	ТО3			Контр+						
лD	Контр-				ТО1						
лD	Контр-				ТО1						

- калибратор А; КалВ – калибратор В; КалС – калибратор С; КалD – калибратор D; КалЕ –
ратор Е; КалF – калибратор F; Контр+ - положительный контроль; Контр- - отрицательный
оль; ТО1 – тестируемый образец 1; ТО2 – тестируемый образец 2; ТО3 – тестируемый образец 3;
cut-off» - «cut-off» калибратор.



РАТУРА
Английский вариант инструкции.

Вопросам качества продукции обращаться по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, ЗАО «Им.Мак»
Тел: (495) 647-2740 (многоканальный),
E-mail: info@biochemmack.ru

«ОДОБРЕНО»
Методической клинической лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО Минздравсоцразвития России,
профессор

Долгов В.В.
Подпись: [Подпись]
Специалист по кадрам РМАПО
Подпись: [Подпись]
16.10.2012 года

Всего прошито

и пронумеровано

8 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

Тамм Н.Е.



УТВЕРЖДЕНА

Министерством Росздравнадзора

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор
ЗАО «БиоХимМак»

№ _____

Тамм Н.Е.

2012г.



Иммуноферментный набор реагентов для качественного и количественного определения антител, ассоциированных с развитием тромбоцитопении II типа в сыворотке крови HiT II-Ab ELISA.

Производитель: «IBL International GMBH», Германия.

ОПИСАНИЕ

Иммуноферментный набор HiT II-Ab ELISA - твердофазный иммуноферментный «сэндвич» анализ, в котором используются рекомбинантные белки человека для качественного и количественного определения IgG антител, ассоциированных с развитием тромбоцитопении II типа.

Набор может быть использован в диагностических целях у пациентов с сахарным диабетом I типа.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ОСЛОЖНЕНИЯ

При индуцируемой тромбоцитопении (ГИТ), тяжелый побочный эффект использования гепарина, встречается у 1-3 % пациентов, получающих лечение гепарином. Могут развиваться два различных типа индуцируемой тромбоцитопении. При ГИТ 1 типа, не развивается никаких клинических симптомов, заболевание характеризуется транзиторным уменьшением количества тромбоцитов. Количество тромбоцитов нормализуется в течение нескольких дней, даже если терапия гепарином продолжается. ГИТ 2 типа – иммуно-опосредованная форма. Количество тромбоцитов снижается более чем на 50 % от базовых значений через 5 - 14 дней после начала терапии гепарином. У пациентов с ГИТ образуются аутоантитела, которые распознают неопитопы, экспозируемые комплексом фактора тромбоцитов 4 с гепарином. Чаще всего обнаруживаются антитела класса IgG, вместе или без антител IgM и IgA. IgM и IgA антитела редко обнаруживаются без IgG антител. Однако, генетическое значение было подтверждено для антител класса IgG, тогда как данные о генетическом значении антител IgM и IgA класса спорны. Fc участок ГИТ антител может связаться с Fc участком рецептора тромбоцитов. Это взаимодействие приводит к активации тромбоцитов и их агрегации. Выделение активизированными тромбоцитами фактора тромбоцитов 4 устанавливает цикл индуцируемой активации тромбоцитов. Активация тромбоцитов приводит к синтезу фактора тромбоцитов 4 и протромбических микрочастиц тромбоцитов. Гепарин подобные молекулы (гепаран) на поверхности эндотелиальных клеток также в состоянии образовывать комплекс с фактором тромбоцитов 4, который может быть распознан ГИТ антителами. Это, в свою очередь, может привести к усилению экспрессии тканевого фактора и дальнейшей активации каскада коагуляции и синтеза тромбина. Данные патогенетические механизмы приводят к увеличению риска де novo артериальных и венозных тромбозомболических осложнений, которые в 10-15 % случаев связаны с летальным исходом. Регулярная диагностика и коррекция антикоагулянтной терапии позволят существенно снизить риск развития осложнений.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест основан на методе твердофазного иммуноферментного «сэндвич» анализа. Предназначен для качественного и количественного определения содержания HiT II-Ab. Образцы (разведенные 1:101) инкубируются в лунках микропланшета, дно которых покрыто специфическими антигенами. Антитела, присутствующие в тестируемом образце, связываются с антигенами. После инкубации для

несвязанных частиц лунки планшета промывают. После этого в лунки микропланшета вносят антиглобулины к антигенам человека с пероксидазой хрена (конъюгат) и проводят реакцию. При этом конъюгат взаимодействует с комплексом антиген - антитело, стабилизированным на дне лунок микропланшета. Несвязанный конъюгат удаляется из лунок планшета при промывании на следующем этапе анализа. После промывки в лунки планшета добавляют субстрат/хромоген, что при наличии ферментного комплекса приводит к образованию желтого окрашивания, интенсивность которого пропорциональна содержанию HIT II-Ab в исследуемом образце.

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА
Реагенты требуют разведения.

Буфер для разведения образцов, 1 флакон, 20 мл - концентрат (белая крышка: желтый раствор)	Содержит: Трис, NaCl, БСА, азид натрия < 0.1% (консервант)
Буфер для промывки 1 флакон, 20 мл - 50х концентрат (белая крышка: зеленый раствор)	Содержит: Трис, NaCl, Твин 20, азид натрия < 0.1% (консервант)
Реагенты, готовые к использованию.	
Негативный контроль, 1 флакон, 1 мл (зеленая крышка: бесцветный раствор)	Содержит: сыворотка человека (разведенная), азид натрия < 0.1% (консервант)
Положительный контроль, 1 флакон, 1 мл (красная крышка: желтый раствор)	Содержит: сыворотка человека (разведенная), азид натрия < 0.1% (консервант)
«Off» калибратор, 1 флакон, 1 мл (голубая крышка: желтый раствор)	Содержит: сыворотка человека (разведенная), азид натрия < 0.1% (консервант)
Калибраторы, 6 флаконов, 1 мл в каждом 0, 3, 10, 30, 100 Ед/мл	Содержит: сыворотка человека (разведенная), азид натрия < 0.1% (консервант)
Интенсивность окрашивания увеличивается с увеличением концентрации: желтый раствор)	
Конъюгат, 1 флакон, 15 мл (голубая крышка: бесцветный раствор)	Содержит: конъюгат иммуноглобулинов к антигенам человека с пероксидазой хрена
Субстратный раствор, 1 флакон, 15 мл (черная крышка)	Содержит: Стабилизированный тетраметилбензидин/ H_2O_2
Кислотный раствор, 1 флакон, 15 мл (белая крышка: бесцветный раствор)	Содержит: 1М Соляной кислотой
Микропланшет 12x8 луночных стрипов с «съемными» стрипами	Дно лунок покрыто специфическими антигенами

ПОМОЩНИКИ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

- Стерилизованные пипетки
- Стерилизованные пипетки одноканальные переменного объема с одноразовыми наконечниками
- Стерилизованные пипетки многоканальные переменного объема с одноразовыми наконечниками
- Почка для реагентов для использования с многоканальной пипеткой
- Стерилизованные стаканы и цилиндры, необходимые для приготовления реактивов
- Стекло или автоматическое промывающее устройство
- Микропланшетный ридер с фильтром на 450 нм, при возможности, фильтром сравнения 620 нм
- Осмотическая или деионизированная вода
- Графическая бумага или программное обеспечение для обработки результатов (линейная регрессия)

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ РЕАГЕНТОВ

Сухие реагенты стабильны при 2°C- 8°C в течение всего срока хранения, указанного на этикетке. Все рабочие реагенты стабильны в течение 1 месяца после приготовления при 2°C- 8°C.

пользуйте реагенты и микропланшет с истекшим сроком годности. Избегайте воздействия прямых солнечных лучей на ТМБ раствор. Стрипы микропланшета храните в плотно закрытом стерилизованном пакете с осушителем.

ОСТЕРЕЖЕНИЯ

предназначен только для диагностики in-vitro и только для профессионального использования. К набору с данным набором могут быть допущены только операторы, обладающие соответствующей подготовкой по лабораторным методикам с соблюдением принципов «надлежащей лабораторной практики».

Реагенты набора не являются высокотоксичными или опасными при их правильном использовании, но при работе с ними надо соблюдать максимальную аккуратность.

Реагенты обладают потенциальным раздражающим эффектом на кожу и слизистые оболочки. При работе с ними следует соблюдать меры предосторожности.

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 529205-2007 «Лаборатории медицинские. Общие требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций».

Неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СП 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений», МУ 287-113 «Правила обработки отходов, образующихся в лабораториях инфекционной патологии» подвергнуть предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

При работе с реагентами пользуйтесь резиновыми или латексными перчатками для защиты рук.

ВНИМАНИЕ! Калибраторы, контроли и буферы содержат в качестве консерванта азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. При попадании азид натрия может вызвать раздражение кожи и слизистых оболочек. При контакте с оловом и медью канализационных труб азид натрия может образовывать взрывчатые азидные соединения. При выливании реагентов в канализацию смывайте их большим количеством проточной воды. При утилизации реагентов используйте международные и национальные/национальные рекомендации.

Не ешьте или курите в месте, где хранятся реагенты и образцы или в месте, где проводится анализ. Не пипетируйте в этом месте.

Набор содержит материалы человеческого и/или животного происхождения. Источники человеческой инфекции были протестированы методами, одобренными FDA, на содержание поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С (HCV), вирусу иммунодефицита человека (HIV), и для всех тестов были получены отрицательные результаты. Так как ни один из известных тестов не гарантирует полностью отсутствие инфекционных агентов, со всеми компонентами, содержащими материалы человеческого происхождения, и образцами пациентов необходимо обращаться как с потенциально инфекционно опасными материалами.

Рекомендации по работе с реагентами

Смешивайте реагенты из разных лотов. Не смешивайте стрипы из разных микропланшетов, даже если они из одного лота.

Реагенты перед использованием должны достичь комнатной температуры 20-25°C. Для получения точных результатов, рекомендовано четко соблюдать условия инкубации.

Инкубация: при использовании автоматических систем рекомендовано проводить анализ при 30°C.

Никогда не нагревайте реагенты выше 37°C.

Вносите субстратный раствор новыми наконечниками. Избегайте воздействия на субстратный раствор прямых солнечных лучей. Никогда не пипетируйте субстратный раствор наконечниками, которые ранее использовались для внесения других реагентов.

Постановка диагноза никогда не должна проводиться на основании одних только лабораторных данных, если все результаты анализа являются адекватными. Результат анализа - только часть всего пула клинических и лабораторных данных о клиническом состоянии пациента. Решение о постановке диагноза должно приниматься при тщательном анализе всех полученных клинических и лабораторных данных.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для анализа данным методом лучше всего подходит свежая плазма крови человека с 3,2% или 3,8% цитрата натрия в качестве антикоагулянта. Сбор образцов крови должен проводиться по стандартной процедуре.

ке венепункции. Не используйте для анализа сильно гемолизированные, иктеричные или
чные образцы и образцы с признаками бактериальной контаминации. Сбор образцов проводите в
и сухие пробирки. Анализ проводите в максимально короткие сроки после центрифугирования и
ния плазмы. Образцы можно хранить в холодильнике при 2-8°C в течение 8 часов, или при –
течение более длительного срока в плотно закрытых пластиковых пробирках.
ользуйте для анализа образцы плазмы крови с гепарином в качестве антикоагулянта!

ПРЕГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

е, что реагенты необходимо готовить непосредственно перед использованием.

ите концентрированные реагенты:

ите концентрат буфера для разведения образцов 1:5 дистиллированной водой (например, 20 мл
0 мл).

ите концентрат буфера для промывок 1:50 дистиллированной водой (например, 20 мл плюс 980

ы:

ите образцы плазмы 1:101 буфером для разведения образцов (1х). Например, 1000 мкл буфера
ведения образцов (1х) + 10 мкл сыворотки. Хорошо перемешайте!

ПРМЫВКА:

овьте 20 мл разведенного буфера для промывок (1х) на 8 лунок (стрип) или 200 мл на 96 лунок.
мер, 4 мл концентрата плюс 196 мл дистиллированной воды.

атическая промывка:

е дополнительный объем буфера, требуемый для заполнения магистралей промывающего
ства и «мертвый» объем пипеток прибора.

и промывка:

стью удалите содержимое лунок. Переверните планшет и промокните лунки на чистую
ровальную бумагу/бумажное полотенце для удаления остатков реагентов. Промойте лунки,
зую по 300 мкл Буфера для промывок на лунку в один цикл промывки. Полностью повторите
дуру промывки еще 2 раза.

ланшет:

ьте требуемое для проведения анализа число стрипов. Неиспользованные стрипы храните в
с осушителем при 2-8°C. Поместите требуемое количество стрипов в держатель. Верните
шиеся стрипы в пакет с осушителем и поместите в холодильник.

ПРОВОДЕНИЕ АНАЛИЗА

внесения калибраторов и контролей и общая схема анализа представлена в приложении. При
м проведении анализа необходимо строить калибровочную кривую. Рекомендовано проводить
в дублях. «Cut-off» калибратор используется только для качественного определения антигенов.
ановите в рамку – держатель необходимое количество стрипов.

сите в соответствующие лунки микропланшета по 100 мкл тестируемых образцов.

сите в соответствующие лунки микропланшета по 100 мкл калибраторов, «cut-off» калибратора,
ительного и отрицательного контролей.

кубируйте в течение 30 минут при 18 - 25°C.

омойте лунки микропланшета 3 раза, используя по 300 мкл буфера для промывок (разведенного
на лунку на один цикл промывки.

сите во все лунки микропланшета по 100 мкл конъюгата.

кубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 25°C).

омойте лунки микропланшета 3 раза, используя по 300 мкл буфера для промывок (разведенного
на лунку на один цикл промывки.

сите во все лунки микропланшета по 100 мкл ТМБ субстратного раствора.

нкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 25°C) в темноте.

обавьте во все лунки микропланшета по 100 мкл стоп-раствора в той же последовательности, что
льзовалась при внесении ТМБ субстратного раствора.

нкубируйте в течение как минимум 5 минут при комнатной температуре (18 - 25°C).

ккурратно покачайте микропланшет в течение 5 секунд.

Измерьте оптическую плотность при 450 нм не позднее чем через 30 минут после внесения стоп-жидкости (длина волны сравнения ≥ 590 нм, например, 620 нм).

КАЧЕСТВЕННАЯ И КАЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценку результатов количественным методом

Оценку результатов количественным методом вычислите среднее значение ОП для каждого калибратора. Используя графическую бумагу, отметьте точки измеренных значений ОП калибраторов по вертикальной оси Y, а соответствующие концентрации HiT II-Ab на горизонтальную ось X. Постройте оптимальную кривую по точкам. Для построения калибровочной кривой обычно может быть использована четырехпараметрическая логистическая (4-PL) регрессия (log/lin). За счет экстраполяции значений ОП на калибровочную кривую определите концентрацию HiT II-Ab в тестируемых образцах.

Результаты	«Серая» зона	Положительные значения
Ед/мл	12-18 Ед/мл	> 18 Ед/мл

Пример типичной калибровочной кривой

представлен пример калибровочной кривой. Не используйте для подсчета результатов при проведении анализа. Калибровочную кривую необходимо строить при каждом проведении анализа!

Калибратор	ОП 450/620 нм	CV% (коэффициент вариации)
1	0.025	0.0
2	0.139	3.5
3	0.283	4.3
4	0.598	4.0
5	1.224	3.6
6	2.123	2.8

Пример расчетов

Результат	ОП (дубль)	ОП (среднее)	Результат (Ед/мл)
1	0.793/0.801	0.797	47.7
2	0.308/0.333	0.321	12.1

Для получения более полной информации - см. вкладыш по контролю качества. Медицинские лаборатории могут использовать собственные контрольные материалы и/или пул международных референсных сывороток, утвержденный Европейскими регуляторными документами. Рекомендовано каждой лаборатории разработать свои собственные ожидаемые нормальные и патологические результаты, основанные на собственном практическом опыте (использованное оборудование, методика проведения анализа) и групп обследованных пациентов.

Оценку результатов качественным методом

Оценку результатов качественным методом считайте ОП «cut-off» калибратора и тестируемых образцов.

Оцените ОП в тестируемых образцах с ОП «cut-off» калибратора. При оценке результатов качественным методом рекомендовано значения ОП в тестируемых образцах, находящиеся в 20% зоне от ОП «cut-off» калибратора рассматривать как «серая» зона. Все тестируемые образцы, в которых ОП выше ОП «cut-off» калибратора рассматриваются как положительные, образцы, в которых ниже ОП «cut-off» калибратора – как отрицательные.

Отрицательные значения: ОП тестируемого образца < 0,8 ОП «cut-off» калибратора
Серая зона: 0,8 ОП «cut-off» калибратора $\leq$ ОП тестируемого образца $\leq$ 1,2 ОП «cut-off» калибратора
Положительные значения: ОП тестируемого образца > 1,2 ОП «cut-off» калибратора

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тестируемые образцы: плазма крови

Объем тестируемого образца: 10 мкл образца, разведенного 1:101 1х буфером для разведения образцов

время инкубации: 90 минут при 18-25°C
зон калибровки: 0-300 Ед/мл
аналитическая чувствительность: 1 Ед/мл
температура: 2-8°C, используйте только оригинальные флаконы.
количество определений: 96 тестов
ОСОБЕННОСТИ МЕТОДА

аналитическая чувствительность
использованием набора IBL HiT II-Ab ELISA протестирован буфер для разведения образцов (30 образцов). Аналитическая чувствительность метода составила 1 Ед/мл.
специфичность и чувствительность
при тестировании образцов пациентов с определенным иммунным и клиническим статусом чувствительность набора HiT II-Ab ELISA составила 100%, специфичность – 96%.
точность
используемые сыворотки были протестированы с использованием данного набора, проведена оценка точности при их разведении. Из-за гетерогенности аутоантител человека существует вероятность того, что в ряде тестируемых образцов линейность будет отсутствовать.

разведение	Фактор разведения	Измеренная концентрация (Ед/мл)	Ожидаемая концентрация (Ед/мл)	Извлечение (%)
	1/100	77.6	80.0	97.0
	1/200	37.5	40.0	93.8
	1/400	18.8	20.0	94.0
	1/800	9.1	10.0	91.0
	1/100	7.7	8.0	96.3
	1/200	3.8	4.0	95.0
	1/400	2.2	2.0	110.0
	1/800	1.0	1.0	100.0

воспроизводимость
оценка точности метода в трех образцах сывороток была оценена воспроизводимость результатов (внутри и между-сериями).

серия	Среднее (Ед/мл)	CV(%)
	9.8	1.3
	120.2	9.8
	210.2	10.0

сериями	Среднее (нг/мл)	CV(%)
	10.2	1.0
	106.6	9.5
	208.6	6.3

калибровка
не используются международные референсные материалы для калибровки набор калиброван по международным единицам (Ед/мл).
ПОЛОЖЕНИЕ
стандартная схема внесения калибраторов, контролей и тестируемых образцов представлена ниже. При оценке результатов количественным методом используйте калибровочную кривую, построенную по значениям ОП в калибраторах.
При оценке результатов качественным методом используйте «cut-off» калибратор.

	2	3	4	6	6	7	8	9	10	11	12
--	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----

Всего прошито
и пронумеровано
7 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

Тамм Н.Е.



УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

«УТВЕРЖДАЮ»

От _____ № _____

Генеральный Директор
ЗАО «БиоХимМак»



Тамм Н.Е.

2012г.

Иммуноферментный набор реагентов для количественного определения инсулина в сыворотке, плазме крови человека (гепарин или цитрат) INSULIN ELISA.
производства IBL International GMBH, Германия.

НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментный набор Insulin ELISA предназначен для количественного определения инсулина человека. Набор предназначен только для диагностики in vitro и не может использоваться в терапевтических целях.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

ВЕДЕНИЕ

Инсулин – основной гормон, регулирующий обмен глюкозы. Он синтезируется β -клетками островков Лангерганса в качестве предшественника, проинсулина, при расщеплении которого образуются С-пептид и инсулин. Оба секретируются в эквивалентном количестве в кровоток нижней полой вены. Полная молекула инсулина состоит из двух полипептидных цепей: цепь А и цепь В (21 и 30 аминокислот, соответственно). Эти две цепи соединены двумя дисульфидными мостиками. Существует интрамолекулярный дисульфидный мостик в цепи А. Основной уровень синтеза инсулина зависит от концентрации глюкозы в плазме крови, гормон оказывает целый ряд важных метаболических действий. Основная его функция состоит в регуляции поступления и использования глюкозы в периферических тканях за счет влияния на переносчик глюкозы. Эти и другие эффекты гипогликемии, такие как ингибирование глюконеогенеза в ткани печени и гликогенолиза, прекращают гормоны, обладающие гипергликемическим эффектом, такие как адреналин, эпинефрин (адреналин), соматотропин и кортизол. Концентрации инсулина сильно снижены у пациентов с сахарным диабетом II типа и некоторых других состояниях, таких как снижение функции гипофиза. Уровни инсулина повышены у пациентов с инсулиннезависимым сахарным диабетом, ожирением, инсулиномой и такими эндокринными нарушениями, как синдром Кушинга и акромегалия.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Иммуноферментный тест основан на методе твердофазного иммуноферментного «сэндвич» анализа и предназначен для количественного определения концентрации инсулина. В тест-системе используются моноклональные антитела к специфичным антигенным детерминантам инсулина, иммобилизованные в лунки микропланшета. Тестируемые образцы, содержащие эндогенный инсулин, вносят в лунки микропланшета и инкубируют вместе с ферментным конъюгатом антител к инсулину и биотина. После инкубации для удаления несвязанного биотинового конъюгата лунки планшета промывают. После промывки вносят конъюгат стрептавидин-HRP (пероксидаза хрена), инкубируют и повторно промывают лунки микропланшета для удаления несвязанного стрептавидинового конъюгата. После промывки в лунки микропланшета добавляют субстрат/хромоген, что при наличии ферментного комплекса приводит к развитию желтого окрашивания, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации инсулина в тестируемом образце.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Набор предназначен только для диагностики in-vitro и только для профессионального использования. Набор содержит материалы человеческого и/или животного происхождения. Источники человеческой сыворотки были протестированы методами, одобренными FDA, на содержание поверхностного

гена гепатита В (HBsAg), антителам к вирусу гепатита С (HCV), вирусу иммунодефицита человека (HIV), и для всех тестов были получены отрицательные результаты. Так как ни один из известных не гарантирует полностью отсутствие инфекционных агентов, со всеми компонентами, содержащими материалы человеческого происхождения, и образцами пациентов необходимо обращаться как с потенциально инфекционно опасными материалами.

В начале анализа полностью и тщательно прочитайте данную инструкцию. Используйте последнюю версию инструкции. Убедитесь, что вы полностью поняли инструкцию.

Микропланшет содержит «ломаемые» стрипы в рамке – держателе. Неиспользуемые стрипы необходимо хранить при 2-80С в металлизированном пакете с осушителем.

Чтобы избежать искажений, вызванных различием во времени инкубации все реагенты необходимо вносить в лунки микропланшета в одинаковом порядке и с одинаковой максимальной скоростью.

Используйте отдельные емкости для каждого реагента. Это особенно важно для емкости для субстрата. Использование ванночки для субстрата, в которой до этого находился раствор конъюгата, может привести к окрашиванию раствора субстрата. Не сливайте реагенты из ванночек обратно во флаконы, так это может привести к загрязнению реагентов!

Для получения хороших результатов тщательно перемешивайте содержимое лунок микропланшета. Не используйте лунки повторно.

Позволяйте лункам высыхать во время тестирования, вносите реагенты немедленно после завершения промывки.

Реагенты перед использованием должны достичь комнатной температуры 20-250С. Температурные колебания инкубации могут влиять на величину ОП, тем не менее, на результаты анализа они влияния не оказывают.

Тестируйте в прохладном.

Не ешьте или курите в месте, где хранятся реагенты и образцы или в месте, где проводится анализ.

При работе с образцами и реагентами пользуйтесь резиновыми или латексными перчатками для защиты. Микробная контаминация реагентов или тестируемых образцов может привести к получению ложных результатов.

Тестирование проводите в соответствии с национальными требованиями по биологической безопасности.

Используйте реагенты с истекшим сроком годности.

Реагенты вносите в объеме, указанном в настоящей инструкции. Точные результаты могут быть получены только при использовании откалиброванных пипеток и протестированного микропланшетного ридера.

Не смешивайте реагенты из разных лотов. Пожалуйста, не смешивайте стрипы из разных микропланшетов, даже если они из одного лота. Условия хранения и транспортировки наборов могут повлиять на то, что может привести к существенной разнице связывающих характеристик лунок стрипов. Избегайте контакта со стоп - раствором, содержащим 0,5 М H₂SO₄. Может быть причиной ожога кожи и слизистых оболочек.

Некоторые реагенты содержат в качестве консерванта проклин 300, BND и/или MIT. При попадании реагентов на глаза или кожу, немедленно промойте большим количеством воды.

Субстрат обладает раздражающим эффектом на кожу и слизистые оболочки. При попадании реагентов на глаза или кожу, немедленно промойте большим количеством воды. Промойте минерализованный объект перед использованием. В случае вдыхания реагента, выйдите на свежий воздух.

При работе с реагентами необходимо обращаться как с потенциально биологически опасными материалами, соблюдая все правила техники безопасности.

Для более подробной специфической информации обращайтесь к листу данных по безопасности и/или инструкции по безопасности.

ОПАСНОСТЬ:

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 529205-2007 «Лаборатории медицинские. Правила безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций».

20
...ть неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СП 2.1.7.728-99
...вила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений», МУ 287-113
...инфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

Реагент	Набор 96 тестов
...уночный микропланшет, дно лунок которого покрыто моноклональными ...телами инсулину.	1 планшет
...дарт нулевой, 3 мл, готов к использованию, содержит консервант без ртути.	1 флакон
...дарты (1-5), 1 мл, готовы к использованию; ...центрации: 6.25 - 12.5 – 25 – 50 и 100 мкМЕ/мл. Стандарты калиброваны по ...ренсным материалам NIBSC 66/304, одобренным ВОЗ. Содержит консервант ...ртути.	5 флаконов
...ментный конъюгат биотина и моноклональных мышинных антител к инсулину, ...готов к использованию. Содержит консервант без ртути.	1 флакон
...ментный комплекс, конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена ...ептавидин-HRP), готов к использованию, 7 мл. Содержит консервант без ...и.	1 флакон
...стратный раствор (тетраметил-бензидин), готов к использованию, 14 мл.	1 флакон
...-раствор (0.5 M H ₂ SO ₄), готов к использованию, 14 мл. Избегайте попадания ...- раствора на кожу и слизистые оболочки. Может быть причиной ...ражения и ожога.	1 флакон
...центрат буфера для промывок, 40х, 30 мл, см. раздел «Подготовка реагентов»	1 флакон
...ание: Дополнительный нулевой стандарт для разведения образцов поставляется по запросу.	

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

...ированные пипетки
...брованные пипетки одноканальные переменного объема с одноразовыми наконечниками
...оканальные пипетки переменного объема с одноразовыми наконечниками
...очка для реагентов для использования с многоканальной пипеткой
...брованные стаканы и цилиндры, необходимые для приготовления реактивов
...е или автоматическое промывающее устройство
...опланшетный ридер с фильтром на 450 нм, при возможности, фильтром сравнения 620 нм
...илированная или деионизированная вода
...иметровая бумага или программное обеспечение для обработки результатов (линейная регрессия)

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ РЕАГЕНТОВ

...крытые реагенты стабильны при 2°C- 8°C в течение всего срока хранения, указанного на этикетке
...а. Не используйте реагенты с истекшим сроком годности. Оставшиеся реагенты и
...ользованные стрипы микропланшета необходимо хранить при 2-80C. Стрипы храните в плотно
...том металлизированном пакете с осушителем. Открытые компоненты набора стабильны в течение
...ель при соблюдении условий хранения. Только при соответствующем хранении и исключении
...минации во время предыдущего использования набора гарантируется качественная работа
...ентов.

ПОДГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

...д проведением анализа нагрейте реагенты до комнатной температуры и разведите буфер для
...ывки. Если в концентрате буфера образовались кристаллы, аккуратно нагрейте их так, чтобы они
...остью растворились.

...р для промывок

...дите содержимое флакона (30 мл) концентрата буфера для промывок дистиллированной водой
...мл) в мерном цилиндре до конечного объёма 1200 мл. Перемешайте, избегая вспенивания.

...денный раствор для промывок стабилен в течение 2 недель при комнатной температуре.

ПРИ ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Вещеская сыворотка, ЭДТА, гепариновая или цитратная плазма могут быть использованы для анализа данным методом. Не используйте для анализа сильно гемолизированные или липемичные образцы и образцы, содержащие азид натрия.

образцов

ротка:

образцов крови должен проводиться по стандартной методике венепункции (например, с использованием Sarstedt Monovette # 02.1388.001). Оставьте пробирку для образования сгустка и дайте сыворотку центрифугированием. Не проводите центрифугирования при неполном образовании сгустка. Внимание: у пациентов, получающих антикоагулянтную терапию, время образования сгустка больше.

а:

ую кровь соберите в центрифужную пробирку, содержащую антикоагулянт, и сразу же ее центрифугируйте (например, для гепаринизированной плазмы используйте Sarstedt Monovette – белая крышка - # 02.165.001; для цитратной плазмы Sarstedt Monovette – зеленая крышка - # 02.166.001.).

ение и подготовка образцов

из проводите в максимально короткие сроки после отделения сыворотки. Образцы можно хранить в холодильнике при 2-8°C в течение 5 дней, или при -20°C в течение более длительного срока (до 1 года) в плотно закрытых пластиковых пробирках. После оттаивания образцов аккуратно их потрясите. Избегайте повторного размораживания и оттаивания образцов (при необходимости аликвотируйте).

деление образцов

концентрация инсулина в тестируемом образце выше таковой в калибраторе с самым высоким содержанием инсулина, необходимо развести образец с использованием нулевого стандарта и повторно провести анализ. При подсчете концентрации необходимо учитывать фактор разведения.

имер:

ведение 1:10: 10 мкл образца + 90 мкл нулевого стандарта (аккуратно перемешайте)

ведение 1:100: 10 мкл разведенного 1:10 образца + 90 мкл нулевого стандарта (аккуратно перемешайте)

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

важные замечания

При использовании все компоненты должны достичь комнатной температуры (20-25°C). Аккуратно встряхните все реагенты без образования пены.

При выполнении анализа стандарты, контроли и образцы необходимо вносить как можно быстрее. Для того чтобы избежать искажений, вызванных различием во времени инкубации, ферментный конъюгат, ферментный комплекс, раствор субстрата и стоп-раствор необходимо вносить в лунки микропланшета в том же порядке и с одинаковой скоростью.

Используйте новые одноразовые наконечники для внесения каждого образца, контроля и реагента для предотвращения перекрестной контаминации.

Время ОП зависит от времени и температуры инкубации. Перед началом анализа рекомендовано подготовить все реагенты, снять крышки с пробирок и установить в рамку – держатель необходимое количество стрипов. Это позволит проводить внесение реагентов и образцов без прерывания.

Всего протекание ферментной реакции прямо зависит от времени и температуры инкубации.

Ведение анализа

При каждом проведении анализа необходимо строить калибровочную кривую.

Установите в рамку – держатель необходимое количество стрипов.

Начните с использованием одноразовых наконечников по 25 мкл стандартов, контролей и образцов в соответствующие лунки.

Начните во все лунки по 25 мкл ферментного конъюгата. Аккуратно перемешайте в течение 10 секунд.

На данном этапе анализа хорошее перемешивание реагентной смеси является важным.

Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 25°C).

После окончания инкубации аспирируйте содержимое лунок и промойте лунки 3 раза, используя по 25 мкл буфера для промывок на лунку на один цикл промывки. Аккуратно постучите микропланшетом на фильтровальной бумаге для полного удаления жидкости.

ание: Для получения точных результатов хорошее промывание лунок микропланшета является первым фактором.

сите во все лунки по 50 мкл ферментного комплекса.

кубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (18 - 250C).

ле окончания инкубации аспирируйте содержимое лунок и промойте лунки 3 раза, используя по 50 мкл буфера для промывок на лунку на один цикл промывки. Аккуратно постучите микропланшетом по фильтровальной бумаге для полного удаления жидкости.

сите во все лунки по 50 мкл субстратного раствора.

кубируйте в течение 15 минут при комнатной температуре (18 - 250C)

бавьте во все лунки по 50 мкл стоп-раствора

мерьте оптическую плотность при 450 нм не позднее чем через 10 минут после внесения стоп-ра (длина волны сравнения ≥ 590 нм, например, 620 нм).

РЕЗУЛЬТАТОВ

сите среднее значение ОП для каждого стандарта, контроля и тестируемого образца. Отклонение значений ОП от среднего не должно быть более 20%.

ьзуя графическую бумагу, отметьте точки измеренных значений ОП стандартов на вертикальной оси, а соответствующие концентрации инсулина на горизонтальную ось X. Проведите оптимальную линию по точкам.

пределения концентрации инсулина в тестируемых образцах сначала найдите соответствующее значение ОП на оси ординат, затем проведите перпендикулярную оси прямую линию (горизонтально) до пересечения с калибровочной кривой. Из точки пересечения проведите вертикальную линию до пересечения с абсциссой и определите соответствующее значение концентрации инсулина.

т калибровочной кривой желательно выполнять с помощью соответствующего программного обеспечения, так как обычная калибровочная кривая (без соответствующей трансформации) не линейна. Построения калибровочной кривой обычно могут быть использованы полиномы более высокой степени или четырехпараметрическая логистическая (4-PL) регрессия, или нелинейная регрессия (например, построение от точки к точке).

ентрацию инсулина в тестируемых образцах необходимо определять непосредственно по калибровочной кривой. В образцах, в которых ОП выше ОП стандарта 5 (то есть, вне калибровочной кривой), определение концентрации инсулина может дать неточные результаты. Необходимо повторно тестировать данные образцы при большем разведении с учетом фактора разведения.

ер типичной калибровочной кривой

представлен пример калибровочной кривой. Не используйте для подсчета результатов при проведении анализа. Калибровочную кривую необходимо строить при каждом проведении анализа!

Стандарт	Оптическая плотность (450 nm)
Стандарт 0 (0 мкМЕ/мл)	0.03
Стандарт 1 (6.25 мкМЕ/мл)	0.07
Стандарт 2 (12.5 мкМЕ/мл)	0.14
Стандарт 3 (25 мкМЕ/мл)	0.35
Стандарт 4 (50 мкМЕ/мл)	0.88
Стандарт 5 (100 мкМЕ/мл)	2.05

ОЖИДАЕМЫЕ НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

рекомендовано каждой лаборатории разработать свои собственные ожидаемые нормальные и клинические результаты.

пользованием тест-системы Insulin IBL International GMBH были определены следующие референсные значения концентрации инсулина у взрослых здоровых лиц: 2 мкМЕ/мл – 25 мкМЕ/мл.

деление тактики лечения пациентов только на основании результатов определения уровней

длина недопустимо. Необходимо учитывать все имеющиеся клинические и диагностические данные.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с «хорошей лабораторной практикой» при каждом проведении анализа необходимо иметь калибровочную кривую и тестировать контроли. Рекомендовано использовать национальные и международные программы оценки качества, позволяющие гарантировать точность результатов. Необходимо проанализировать достаточное количество контрольных образцов, чтобы определить нижний уровень и допустимые значения, позволяющие контролировать правильность проведения анализа. Для анализа уровней в контрольных материалах используйте соответствующие статистические методы. Используйте контроли с нормальными и патологическими уровнями. Характеристики контрольных материалов представлены в сертификате контроля качества, вложенном в набор. Уровни в контрольных материалах и допустимые значения всегда соответствуют лоту набора. Если уровни в контрольных материалах не укладываются в допустимый диапазон, результаты анализа анализируемых образцов могут быть неточными. В любом случае обратите внимание на следующие технические особенности проведения анализа: калибровка, время инкубации, настройка фотометра, срок годности реактивов, хранение и условия инкубации, качество промывки.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА И ВАЛИДАЦИЯ

Диапазон определяемых значений

Система Insulin IBL International GMBH позволяет определять концентрацию инсулина в диапазоне 0,1 - 100 мкМЕ/мл.

Крестная реактивность

Крестную реактивность определяли следующим образом: в образец сыворотки, содержащей инсулин в концентрации 4 нг/мл (100 мкМЕ/мл) добавляли различные аналиты и измеряли уровень инсулина.

Добавленный аналит к образцу с высоким содержанием инсулина (4 нг/мл)		Ожидаемая концентрация инсулина нг/мл	Перекрестная реактивность, %
Инсулин свиньи	8 нг/мл	17	>100
Инсулин быка	8 нг/мл	17.8	>100
Инсулин собаки	16 нг/мл	17.2	82
Инсулин кролика	16 нг/мл	14.1	63
Инсулин крысы	16 нг/мл	4.0	0
Проинсулин человека	32 нг/мл	4.1	0
Проинсулин свиньи	16 нг/мл	4.0	0
Проинсулин быка	16 нг/мл	4.1	0

Чувствительность

Чувствительность метода IBL Insulin ELISA составляет < 1,76 мкМЕ/мл (два стандартных отклонения при тестировании 20 повторов нулевого стандарта).

Производительность

Внутри серии

Производительность внутри серии представлена ниже:

Образец	n	Среднее (мкМЕ/мл)	CV(%)
---------	---	-------------------	-------

	20	17.5	2.6
	20	66.4	1.8

ду сериями

производительность между сериями представлена ниже:

вещ	n	Среднее (мкМЕ/мл)	CV(%)
	12	17.4	2.9
	12	66.9	6.0

чение

цы были обогащены при добавлении раствора с известным содержанием инсулина (отношение ов 1:1). Ожидаемые значения были вычислены следующим образом: 1/2 концентрации инсулина в веденном образце + 1/2 концентрации инсулина в обогащающем растворе. Процент извлечения слен при умножении отношения измеренных концентраций к ожидаемым, на 100.

ентрация ленном це ношение ов 1:1) Е/мл)	Измеренная конц. (мкМЕ/мл)	Ожидаемая конц. (мкМЕ/мл)	Извлечение (%)
	21.2		
100	66.4	60.6	109.6
50	38.8	35.6	108.9
25	23.4	23.1	101.1
12.5	17.37	16.9	102.9
	69.0		
100	84.6	84.5	100.1
50	58.4	59.5	98.1
25	43.2	47.0	91.8
12.5	37.5	40.8	91.9

ентрация ленном це ношение ов 1:1) Е/мл)	Измеренная концентрация (мкМЕ/мл)	Ожидаемая концентрация (мкМЕ/мл)	Извлечение (%)
нет	21.2	21.2	
1:2	9.4	10.6	88.5
1:4	5.2	5.3	98.5
1:8	2.8	2.7	105.9
1:16	1.5	1.3	110.3
нет	69.0	69.0	
1:2	30.5	34.5	88.4
1:4	17.6	17.3	102.0
1:8	8.7	8.6	101.2
1:16	4.8	4.3	110.4

ОТРЕЦАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

с началом анализа полностью и тщательно прочитайте данную инструкцию. Используйте последнюю версию инструкции. Убедитесь, что вы полностью поняли инструкцию. Любое изменение методики проведения анализа может привести к искажению результатов. Производитель IBL International GmbH не несет ответственности и не принимает претензий за любые потери и повреждения, произошедшие из-за несоблюдения данной инструкции.

Интерференция

Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0.5 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не оказывают существенного влияния на результаты анализа.

Влияние лекарственных препаратов

В настоящее время лекарственных препаратов, влияющих на результаты определения инсулина, в тестируемых образцах не обнаружено.

hook-эффект большой концентрации

Данная тест-система гарантирует отсутствие hook-эффекта в образцах с концентрацией инсулина до 100 мкМЕ/мл.

Юридические аспекты

Важность результатов

Анализ должен быть выполнен в соответствии с инструкцией изготовителя. Кроме того, пользователь должен строго придерживаться правил хорошей лабораторной практики или других принятых национальных стандартов и/или законов. Это особенно важно при использовании контрольных образцов.

Важно тщательно проанализировать достаточное количество контрольных образцов, чтобы определить нижний уровень и допустимые значения, позволяющие контролировать правильность проведения анализа. Если уровни в контрольных материалах не укладываются в допустимый диапазон, результаты анализа тестируемых образцов могут быть неточными.

Тактика лечения

Выбор тактики лечения никогда не должен проводиться на основании одних только лабораторных результатов, даже если все результаты анализа являются адекватными. Результат анализа - только часть общей картины. Решения о тактике лечения должны приниматься при тщательном анализе всех полученных данных.

Определение тактики лечения пациентов только на основании результатов определения уровней инсулина недопустимо.

Ответственность

Любое изменение протокола анализа или использование компонентов набора различных лотов может привести к получению неточных результатов.

ТЕМПЕРАТУРА

Английский вариант инструкции.

По вопросам качества продукции обращаться по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, ЗАО «ХимМак»

Телефон: (495) 647-2740 (многоканальный),

Электронная почта: info@biochemmack.ru

ПОДПИСАНО

Клинической лабораторной

диагностики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России,

д.м.н., профессор


Подпись В.В. Давыдова
Секретарь:
Специалист по кадрам РМАПО
16.10.2012 года

Всего прошито
и пронумеровано
8 листов

Генеральный Директор

ЗАО "БиоХимМак"

Тамм Н.Е.

