

НАБІР ІФА ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ІНСУЛІНУ

1606-15, Insulin

Каталог. №: 1606-15

Методика від 10-10-2009

Кількість : 96

Виробник : **DAI, (США)**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Для діагностичного застосування In Vitro

Тест	Insulin ELISA
Метод	Твердофазний імуносорбентний аналіз
Принцип	Непрямий ІФА: покритий антигенами планшет
Діапазон визначення	0-200 мкМО/мл
Зразок	25 мкл сироватки
Специфічність	Не спостерігається
Чутливість	1,5 мкМО/мл
Загальний час	~ 45 хв.
Термін зберігання	12-14 міс.

* Лабораторні результати ніколи не можуть бути єдиною основою для медичного висновку. Історія хвороби пацієнта та подальші дослідження повинні бути взяті до уваги.

НАЗВА ТА ПРИЗНАЧЕННЯ

Даний набір виробника є твердофазним імуноферментним аналізом (ІФА), призначеним для кількісного визначення in vitro інсуліну в сироватці та плазмі крові людини.
(Для застосування тільки кваліфікованим персоналом).

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Набір для визначення інсуліну компанії-виробника є твердофазним імуноферментним аналізом (ІФА). Лунки покриті моноклональними антитілами з більш високою активністю в інсуліні. Коли зразки і контролі інкубують в лунках з ферментним кон'югатом, що є ще одними антитілами, пов'язаними з пероксидазою хрому, щоб сформувати сендвіч-комплекс в лунці. Незв'язаний кон'югат потім змивається буфером для промивання. Кількість зв'язаної пероксидази пропорційна концентрації інсуліну у зразку. При додаванні субстрату і хромогену інтенсивність кольору буде розвиватися пропорційно до концентрації інсуліну в зразках.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Даний набір для кількісного визначення інсуліну призначено для застосування в діагностиці in vitro.
- Вміст набору призначений для використання як єдине ціле. Компоненти із різних партій не повинні змішуватись та використовуватись.
- Стандарти, що містять людську сироватку, повинні розцінюватися як потенційно інфіковані. До всіх продуктів людського походження слід застосовувати відповідні запобіжні заходи.

МАТЕРІАЛИ

- Мікролуночні стрипи (96 лунок): лунки покриті моноклональними антитілами до інсуліну – 12x8 стрипів.
- Ферментний кон'югат (11мл): антитіла до інсуліну, кон'юговані з пероксидазою хрому.
- Набір референс-стандартів (0,70 мл / кожен): Референтні значення інсуліну людини: 0, 5, 25, 50, 100, 200 мкМО/мл, відкалібровані згідно 1-ї незалежної оцінки ВООЗ по інсуліну (66/304). Конверсія одиниці інсуліну в одиниці СІ (пмоль / л, 1мкМО = 6,0 пмоль).
- Розчин ТМБ (11 мл): буферний розчин, що містить перекис водню і ТМБ.
- Концентрований промивний буфер (100x) 10 мл (додати 10 мл промивного буферу до 990 мл дистильованої води).
- Стоп-розчин (11 мл): 2N HCl.
- Тримач для кріплення окремих лунок.

ДОДАТКОВІ МАТЕРІАЛИ НЕ В КОМПЛЕКТІ ПОСТАВКИ

- Планшет-рідер з довжиною хвилі 450 нм.
- Дозатор з наконечниками на 25, 100 мкл.

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

- Зберігати набори при температурі 2-8 ° С і тримати лунки в сухому пакеті з осушувачем.
- Закриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності. ТМБ- розчин повинен бути безбарвним. Якщо розчин стає синім, він повинен бути замінений. Не піддавати реагенти сильному світлу протягом зберігання чи використання.

ЗАБІР ТА ОБРОБКА ЗРАЗКІВ

Взяти кров з вени. Дати згорнутися і відокремити сироватку центрифугуванням при кімнатній температурі. Якщо сироватки не можуть бути проаналізовані негайно, їх можна зберігати при 2-8 ° С протягом 3 днів або замороженими при температурі 20 ° С протягом місяця. Уникати повторного заморожування і відтавання зразків. Не зберігати в саморозморожуваному холодильнику. Не використовувати гіперліпемічні, гемолізовані, забруднені, інактивовані теплом або ЕДТА плазмою зразки, оскільки вони можуть призвести до помилкових результатів.

ПІДГОТОВКА ДО АНАЛІЗУ

- Довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури (20-25 ° С) і акуратно перемішати до початку аналізу.
- Всі реагенти повинні бути готові до початку аналізу. Після того як аналіз почався, він має бути виконаний без перерви, щоб отримати найбільш надійні та стійкі результати.
- Використовувати нові наконечники для кожного зразка.

ПРОЦЕДУРА ДОСЛІДЖЕННЯ

- Встановити необхідну кількість лунок в тримачі. Позначити листок даних із вказанням зразків.
- Внести 25 мкл зразка сироватки, контролю та стандарту у відповідні лунки.
- Внести 100 мкл ферментного кон'югату в кожен лунку і перемішати протягом 5 секунд.
- Інкубувати протягом 30 хвилин при 25°С.
- Видалити інкубаційну суміш та промити лунки п'ять разів буфером для промивання.
- Внести 100 мкл ТМБ в кожен лунку.
- Інкубувати протягом 15 хвилин при К.Т.
- Зупинити реакцію додаванням 50 мкл стоп розчину в кожен лунку та зчитати ОЩ при 450 нм за допомогою рідера впродовж 5 хвилин.

ПРОЦЕДУРНІ ПРИМІТКИ

- Ретельно промивати мікролунки і видаляти воду, щоб отримати найкращі результати.
- Вносити всі реагенти та зразки на дно лунки. Вортексне змішування або струшування НЕ вимагається.
- Поглинання є функцією часу і температури інкубації. Рекомендується зняти кришки з усіх реагентів та зразків, необхідну кількість лунок розмістити та зафіксувати тримачем. Це забезпечить рівномірний розподіл часу для кожного розкапування без перерви.
- З тієї ж причини тривалість процедур аналізу має бути обмежена. Не рекомендується використовувати більше 20 зразків пацієнтів з набором стандартів у дублях.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна використовувати внутрішні контролю в декількох рівнях для контролю якості аналізу. Контролі слід розглядати як невідомі значення. Отримані результати мають відповідати визначеним нормам контролю. Контролі можуть бути отримані з комерційно доступних джерел, але не повинні містити азид натрію в якості консерванту.

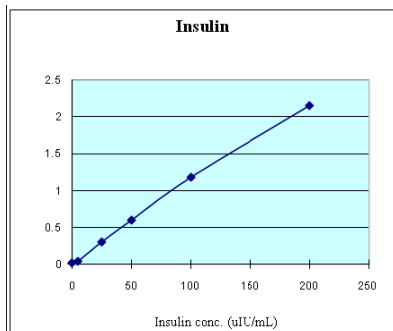
ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Може використовуватись будь-який мікролуночний рідер з можливістю визначення оптичної щільності при 450 нм. Значення інсуліну пацієнта отримано наступним чином:

- На графічному папері вивести концентрацію (X) кожного референтного стандарту проти його поглинання (Y).
- Отримуємо значення інсуліну зразків з посиланням на стандартну криву.

Лунка №	Опис (мкМО/мл)	Абсорбція (450 нм)	Інсулін (мкМО/мл)
A1	0	0,02	
B1	5	0,042	
C1	25	0,303	
D1	50	0,600	
E1	100	1,183	

F1	200	2,152	
G1	Пацієнт А	0,189	15,8
H1	Пацієнт В	1,316	113,2



РЕФЕРЕНТНИЙ ДІАПАЗОН

- Натщесерце: 5-35 мкМОд/мл
- 30 хв. після прийому глюкози 30-230 мкМОд/мл
- 120 хв. після прийому глюкози 14-160 мкМОд/мл

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точність

В аналізі: три об'єднання сироваток аналізувати 8-кратно в одній процедурі.

Між аналізами: три об'єднання сироваток аналізувати в дублях через три дні.

Зразок сироватки	Середнє (мкМОд/мл)	В аналізі		Між аналізами	
		СВ	КВ%	СВ	КВ%
1	15,2	1,59	10,40	1,54	11,8
2	51,4	3,23	6,29	3,6	7,67
3	124	10,53	8,50	6,87	5,80

Достовірність

Сироватка, що містить 200 мкМОд/мл інсуліну розбавляли серійно сироваткою без інсуліну. Розведення досліджувались та відновлення інсуліну порівнювались з очікуваними концентраціями.

Зразок	Очікуваний рівень інсуліну (мкМОд/мл)	Отриманий рівень інсуліну (мкМОд/мл)	Відновл. %
Нерозвед.	200		
1:0,6	125	125,3	100,2
1:1	100	104,4	104,4
1:2	66,7	60,8	91,2
1:4	40	43,0	107,5
1:6	28,6	28,5	99,7
1:7	25	27,3	109,2
1:9	20	20,4	102
1:12	15,4	15,4	100

Відомі зразки інсуліну насичувались різними концентраціями інсуліну. Потім зразки досліджувались та відновлення інсуліну порівнювались з очікуваною концентрацією, як показано на малюнку: (одиниці мкМОд/мл).

Інсулін	Насиченість інсуліном	Очікувані значення	Отримані значення	Відновл. %
5	100	52,5	47,7	90,9
5	200	102,5	101,2	98,7
50	10	30,0	31,4	104,7
50	25	37,5	35,2	93,9
50	200	125,0	124,9	99,9
50	40	45,0	45,4	100,1

Чутливість

Чутливість, отримана з цього дослідження була менше 1,5 мкМОд/мл. Мінімально визначена концентрація інсуліну склала 0,5 мкМОд/мл.

Специфічність

Відсутня перехресна реактивність з С-пептидом при концентрації 5000 пмоль/мл, з інтактним людським проінсуліном (біосинтетичним) 0,3%. Високі концентрації ліпідів або білірубину не впливають на даний ІФА-набір. Очищений гемоглобін до 50 мкг / мл не впливає на аналіз. Не спостерігалось жодного впливу зі сторони ревматоїдного фактору або людських анти-мишачих антитіл.



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

