



Набір ІФА для кількісного визначення в сироватці людини С-ПЕПТИДУ

Кат. № : 1293Z

Кількість : 96

Виробник : Diagnostic Automation, Inc. (США)

Методика від 16-06-2009

Увага: основою для проведення аналізу є оригінал інструкції англійською мовою.

НАЗВА ТА ПРИЗНАЧЕННЯ ДО ВИКОРИСТАННЯ

Набір DAI C-PEPTIDE є кількісним твердофазним імуноферментним аналізом (ІФА). Це дослідження розроблене для кількісного визначення *in vitro* С-пептиду в сироватці людини як засіб діагностики хворіб, які привають на метаболізм інсуліну.

ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Система кількісного дослідження DAI C-PEPTIDE є твердофазним імуноферментним аналізом (ІФА). Лунки покриті специфічними антитілами до С-пептиду. Під час інкубації проб та контролів в лунках із ферментним кон'югатом С-пептиду інші антитіла закріплюються на пероксидазі хрому та утворюють сендвіч-комплекс, зафіксований на лунці. Після цього незафіксований кон'югат вимивається промивним буфером або проточною водою. Кількість закріпленої пероксидази пропорційна концентрації С-пептиду в пробі. Після додавання субстрату та хромогену формується колір. Інтенсивність якого пропорційна концентрації С-пептиду у пробах.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Даний набір створений тільки для діагностичного використання *in vitro*.
2. Компоненти цього набору призначені для використання як цілісної одиниці. Компоненти із різних серій не повинні змішуватись та використовуватись.
3. Референтні компоненти, які містять сироватку людини повинні розглядатись як потенційно інфекційні. Всі продукти людського походження повинні використовуватись з дотриманням відповідних застережень.

МАТЕРІАЛИ, ЯКІ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1. Мікролуночні стрипи (96 лунок): лунки покриті специфічними антитілами до С-пептиду. 8x12 стрипів.
2. Ферментний кон'югат (11 мл): Кон'юговані пероксидазою хрому антитіла до С-пептиду.
3. Розчинник проби (11 мл) або нульовий стандарт.
4. Комплект референтних стандартів (0,75 мл/кожний): Людський С-пептид. Стандарти: 0,5 - 2,5 - 5 - 10 - 20 нг/мл. Структура стандарту не є стійкою. Тому він повинен зберігатись щільно закритим рівними частинами при -20°C. Після відкриття він стабільний впродовж 5 днів при 4°C.
5. Позитивний контроль (0,75 мл). Значення вказане на флаконі.
6. Розчин ТМБ (11 мл): Розчин буферу. Який містить перекис водню та ТМБ.
7. Концентрат промивного буферу (100x)(10 мл): Приготувати робочий промивний розчин додавання 10 мл концентрату промивного розчину до 990 мл дистильованої води.
8. Стоп-розчин: 2 N HCl.
9. Рамка для фіксації окремих лунок.

МАТЕРІАЛИ, ЯКІ ВИМАГАЮТЬСЯ, А НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1. Мікролуночний рідер з довжиною хвилі 450 нм.
2. Дозатор з наконечниками на 25 та 100 мкл.
3. Гнучка пляшка на 1л для використання в промиванні мікролунок робочим промивним буфером впродовж процедур досліджень.

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

1. Зберігати набори при 2-8°C, а мікролуночки тримати в сухому мішечку з осушувачами.
2. Закриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності набору. Розчин ТМБ повинен бути прозорим. Якщо розчин стає синім його потрібно замінити. Не піддавати ці реагенти впливу сильного світла впродовж зберігання чи використання.

ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зібрати кров венопункцією. Дати зсістися та відділити сироватку центрифугуванням при кімнатній температурі. Якщо сироватки немодливо центрифугувати відразу, вони можуть зберігатись в замороженому вигляді при -20°C до 1 місяця. Уникати повторного заморожування та розморожування препаратів сироватки. Не зберігати в саморозморожуючому морозильнику. Не використовувати гіперліпемічний, гемолізований, забруднений або інактивованій теплом зразок. Оскільки це може викликати помилкові результати.

ПІДГОТОВКА ДО АНАЛІЗУ

1. Довести усі реагенти і зразки до кімнатної температури (24±3°C) і обережно перемішати перед початком дослідження.
2. Перед початком дослідження усі реагенти та зразки мають бути готовими. Як тільки дослідження почалося, воно повинно бути проведеним без жодного переривання, щоб отримати найбільш надійні та послідовні результати.
3. Для кожного зразка використовувати новий одноразовий наконечник.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

1. Закріпити в штативі рамки необхідну кількість лунок. Створити контрольну картку з позначенням зразків.
2. Додати у відповідні лунки по **25 мкл** зразка сироватки, контролів та референтного стандарту.
3. Внести в кожну лунку по **100 мкл** ферментного кон'югату і змішати впродовж 5 сек.
4. Інкубувати **30 хв** при кімнатній температурі.
5. Видалити ункубаційну суміш та промити лунки **5 разів** промивним буфером (300 мкл/лунку/кожну промивку).
6. Додати в кожну лунку, включаючи лунку бланку, по **100 мкл** розчину ТМБ.
7. Інкубувати **15 хв** при кімнатній температурі.
8. Зупинити реакцію, додавши **50 мкл** стоп-розчину в кожну лунку і визначити ОЩ кожної лунки при **450 нм** за допомогою планшет-рідера.

ЗАУВАЖЕННЯ ПО ПРОЦЕДУРІ ДОСЛІДЖЕННЯ

1. Для отримання найкращих результатів потрібно промити мікролуночки та ретельно висушити воду.
2. Розкапувати усі реагенти і зразки на дно лунок. Змішування вортеском або струшування не вимагається.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна використовувати внутрішні контролі декількох рівнів. Контролі повинні розглядатись як невідомі значення. Отримані результати повинні бути співвідносними із встановленими значеннями контролю. Контролі можуть бути отримані комерційним шляхом, але не повинні містити азиду натрію в якості консерванту.

ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Може використовуватись будь-який планшет-рідер, здатний до визначення спектральної поглинальної здатності при 450 нм. Значення С-пептиду пацієнта отримується наступним чином:

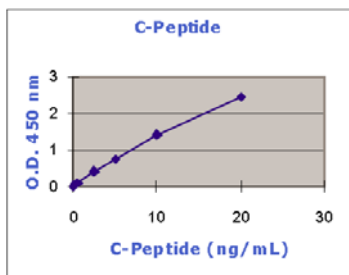
1. На папері для побудови графіків виведіть концентрацію (X) кожного із референтних стандартів проти їхньої абсорбції (Y).
2. Отримайте значення С-пептиду зразків, зсилаючись на калібрувальну криву.

Лунка №	Опис (нг/мл)	Абсорбція (450 нм)	С-пептид (нг/мл)
A1	0	0.033	
B1	0.5	0.113	
C1	2.5	0.428	
D1	5	0.761	
E1	10	1.425	
F1	20	2.472	
G1	Пацієнт А	0.159	0.79
H1	Пацієнт В	1.361	9.50

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

1. Рекомендується, щоб кожна лабораторія визначала свій власний діапазон норми та патології.
2. Вивчення діапазону норми людської сироватки було проведено за допомогою набору кількісного С-пептиду DAI. Отримані значення від 100 зразків сироватки склали від **0,2-13,2 нг/мл**.

3. Оскільки нирка – головна із ділянок метаболізму С-пептиду, хворі на гостру ниркову недостатність можуть мати надмірно високі циркулюючі рівні С-пептиду.



РЕФЕРЕНТНИЙ ДІАПАЗОН

Натщесерце: 1,0 – 3,0 нг/мл.

Для переведення в нмоль/л = нг/мл X 1/3

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точність

Вивчення відновлення проводились на пулах сироватки насиченої відомою кількістю С-пептиду. Були визначені значення С-пептиду та відсоткові співвідношення відновлення.

Вихідні значення (нг/мл)	Очікувані значення (нг/мл)	Отримані значення (нг/мл)	Відновлення (%)
5	3.75	3.8	101
5	7.5	6.1	81
10	6.25	4.9	78.4
10	10	10.6	106
20	11.25	11	97.8
20	15	14.2	94.7

Точність

Коефіцієнти варіацій в аналізі та між ними були оцінені на основі 3 різних пулів зразків сироватки.

В аналізі	Пул А	Пул В	Пул С
К-сть	8	8	8
Середнє (нг/мл)	0.87	4.11	7.02
С.В. (нг/мл)	0.04	0.22	0.22
К.В. (%)	4.7	5.39	3.07

Між аналізами	Пул А	Пул В	Пул С
К-сть	8	8	8
Середнє (нг/мл)	0.82	3.86	7.67
С.В. (нг/мл)	0.04	0.32	0.59
К.В. (%)	4.74	8.28	7.75

Специфічність

Набір кількісного (нг/мл) С-пептиду ДАІ досліджувався на перехресну реактивність з наступними речовинами:

Пептид	Перехресна реактивність %
Проінсулін людини (фракція 32-33)	63
Проінсулін людини (фракція 64-65)	87
Інсулін людини	0
С-пептид людини в інсуліні	100

Концентрації інтактного та фракційного проінсуліну взятого натщесерце, як правило, складають лише 1-2% від концентрації С-пептиду. Перехресна реактивність з цими молекулами не є клінічно важливою.

Чутливість

Для оцінки чутливості аналізу проводилось лінійне дослідження:

Вихідні (нг/мл)	К-сть розведень	Очікувані (нг/мл)	Отримані (нг/мл)	Відновлення (%)
20	1:2	10	10	100
	1:4	5	5	100
	1:5	4	3.9	97.5
	1:8	2.5	2.3	92
	1:10	2	1.8	90
	1:20	1	0.85	85

Отримана в цьому дослідженні чутливість склала менш ніж **0,3 нг/мл**. Мінімально визначена концентрація С-пептиду складає **0,1 нг/мл**.

ЛІТЕРАТУРА

(Див. в оригіналі інструкції).

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ:

ПМП «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97, м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: (0342) 775122. факс: (0342) 775612
e-mail: info@diameb.com
www.diameb.ua