

НАБОР ИФА

ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНДРОСТЕНЕДИОНА

EIA-3265, Androstenedione

Каталог. № : **EIA-3265**
Количество : **96**
Производитель: **DRG (Германия)**

Методика от **07-2014**
Версия **12.0**



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения андростенедиона в сыворотке и EDTA плазме крови.

Настоящий анализ предназначен только для диагностического использования in vitro.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор DRG Андростенедион ELISA базируется на принципе конкурирующего связывания. Лунки микропланшета покрыты антителом, направленным против уникальной антигенной стороны молекулы андростенедиона. Эндogenous андростенедион образцов пациентов конкурирует с андростенедионом, конъюгированным с пероксидазой конкурируют за связывание с антителом, которым покрыто дно лунок. После инкубации планшет промывается. Количество связанного конъюгата пероксидазы обратно пропорционально концентрации андростенедиона в образце. После добавления раствора субстрата интенсивность развитого окраса обратно пропорционально концентрации андростенедиона в образце.

3. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Только для использования в in-vitro диагностике. Только для профессионального использования.
2. Этот набор может содержать реагенты, приготовленные из человеческой сыворотки или плазмы. Использованные сыворотка или плазма тестировались методом, утвержденным FDA, и найдено, что они не содержат антител к ВИЧ-1/2, HCV и HBsAg. Тем не менее, так как не существует метода, дающего полную гарантию отсутствия ВИЧ, HCV, вируса гепатита В или каких-либо других инфекционных агентов, то с данными реагентами надо обращаться как с потенциально инфекционно-опасным материалом.
3. Перед началом анализа внимательно ознакомьтесь с инструкцией. Используйте только действительную версию. Убедитесь, что все понятно.
4. Микропланшет состоит из отделяющихся полосок. Неиспользованные лунки хранить при 2-8 °C в запечатанной упаковке. Использовать с поставляющейся рамкой.
5. Пипетирование образцов и реагентов проводить как можно быстрее и с одинаковыми интервалами для каждого шага.
6. Емкости использовать только для одиночных реагентов. Это особенно важно для емкостей для субстратов. Использование емкости для раствора субстрата, которая предварительно использовалась для раствора конъюгата, может привести к окраске раствора. Не помещать реагенты обратно в пробирки во избежание загрязнения.
7. Для получения надлежащих результатов тщательно перемешивать содержимое лунок. Не использовать лунки повторно.
8. Не допускать высыхания лунок во время анализа; реагенты добавлять сразу же после завершения промывочного шага.
9. Перед началом теста привести реагенты к комнатной температуре. Температура влияет на считывание плотности, но это не влияет на результаты тестирования образцов пациентов.
10. Не пипетируйте ртом и избегайте контакта кожи и слизистых с реагентами. Избегайте контакта с реагентами и образцами. Это может привести к раздражению кожи и ожогам.
11. Не курите, не пейте, не ешьте и не применяйте косметику в местах работы с реагентами.
12. Используйте одноразовые перчатки при обращении с образцами и реагентами. Микробиологическое загрязнение реагентов или образцов может влиять на результаты.
13. Обращайтесь с реагентами согласно правилам безопасности.
14. Не используйте реагенты после истечения срока пригодности.
15. Необходимо придерживаться всех объемов, описанных в

инструкции. Оптимальные тестовые результаты будут получены при использовании калиброванных пипеток.

16. Не смешивайте компоненты разных наборов. Не рекомендуется менять местами лунки разных планшеток даже от одного набора. Наборы могут транспортироваться разными способами, поэтому допускается незначительное различие.
17. Избегать контакта со стоп-раствором, содержащим 0.5 M H₂SO₄. Может вызвать раздражения и ожоги.
18. Некоторые реагенты содержат Proclin 300, BND и/или MIT в качестве консервантов. При попадании на кожу или глаза, промыть с большим количеством воды.
19. Субстрат ТМВ оказывает раздражающее действие на кожу и слизистую. При контакте, промыть с большим количеством воды и мылом. Промыть загрязненные предметы перед их повторным использованием.
20. Химикалии и приготовленные или использованные реагенты необходимо обрабатывать согласно требованиям безопасности.
21. Лист данных безопасности доступен по требованию.

4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

4.1 Содержание набора

1. **Микрострипы**, 12x8 стрипов, 96 лунок
Лунки покрыты поликлональным антителом к андростенедиону.
2. **Стандарт (стандарт 0-5)**, 6 фл., 1 мл, готовый к использованию
Концентрации: 0-0,1-0,3-1,0-3,0-10 нг/мл
Конверсия: 1 нг/мл=3,492 нмоль/л
Содержит не ртутный консервант.
3. **Контроль Высокий и Низкий**, 2 пробирки, 1.0 мл каждая, готовы к использованию; диапазоны и объемы указаны на этикетке. Содержит не ртутный консервант.
4. **Ферментный конъюгат**, 1 фл., 25 мл, готов к использованию.
Андростенедион, конъюгированный с пероксидазой.
Содержит не ртутный консервант.
5. **Раствор субстрата** 1 фл., 25 мл, готовый к использованию ТМВ.
6. **Стоп раствор**, 1 фл., 14 мл, готов к использованию H₂SO₄ 0,5M Избегайте контакта со стоп раствором. Он может вызвать ожог.
7. **Раствор для промывания (40x)**, 1 фл., 30 мл.
Смотр. «Приготовление реагентов»

Примечание: *Дополнительный 0 стандарт для разбавления образца доступен по запросу.*

4.2 Необходимые, но не поставляемые материалы

1. Микропланшетный ридер, способный проводить измерения при 450 нм (±10 нм).
2. Калиброванные точные пипетки.
3. Абсорбирующая бумага.
4. Дистиллированная или деионизированная вода.
5. Таймер.
6. Миллиметровая бумага или программное обеспечение.

4.3 Условия хранения

При хранении при 2-8°C неповрежденные реагенты будут сохранять свою активность до окончания срока годности. Не используйте реагенты после срока годности.

Все вскрытые реагенты должны храниться при 2-8°C. Микропланшет необходимо хранить при 2-8°C. После первого вскрытия, снова плотно запечатать. Вскрытые наборы остаются активными на протяжении 3 месяцев при надлежащем хранении.

4.4 Подготовка реагентов

Приведите все реагенты и стрипы, что будут использоваться, к комнатной температуре.

Промывочный раствор

Разбавить 30 мл концентрированного промывочного раствора 1170 мл деионизированной воды до конечного объема 1200 мл. *Разбавленный промывочный раствор стабилен 2 недели при комнатной температуре.*

4.4 Уничтожение набора

Уничтожение набора необходимо проводить согласно требованиям по безопасности. Специальная информация для данного продукта указана в листе данных по безопасности.

4.5 Поврежденные наборы

При повреждении набора или компонентов, необходимо уведомить производителя в течение 1 недели после получения набора. Поврежденные компоненты не должны использоваться в анализе. Их необходимо хранить до получения замены, после чего уничтожить.

5. СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для анализа должна использоваться сыворотка или ЭДТА плазма.

Не используйте гепариновую или цитратную плазму. Гепариновая плазма может привести к слегка заниженным значениям, для цитратной плазмы результаты будут завышенными.

Не используйте для анализа гемолизированные, иктерические и липемические пробы.

5.1 Сбор образцов

Сыворотка:

Соберите кровь венопункцией (напр. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), дайте возможность стечь и отделите сыворотку центрифугированием при комнатной температуре.

Плазма:

Цельная кровь должна быть собрана в центрифужные пробирки, содержащие антикоагулянт и центрифугировать после забора. (Например, для EDTA плазмы - Sarstedt Monovette – красная крышка - # 02.166.001).

5.2 Подготовка и хранение образцов

Образцы должны быть закрытыми и храниться до 5 дней при 2-8 °С. Для более длительного периода образцы должны быть заморожены до -20 °С и хранить до проведения анализа. Оттаявшие образцы переверните несколько раз перед анализом.

5.3 Разбавление образцов

Образцы с начальными значениями высшими, чем наивысший стандарт необходимо разбавить 10- или 100-кратно *0 стандартом* и повторно анализировать.

Для вычисления концентрации этот фактор разбавления необходимо учесть.

Например:

- Разбавление 1:10: 10 мкл сыворотки + 90 мкл 0 стандарта (тщательно перемешайте);
- Разбавление 1:100: 10 мкл разбавления «1:10» + 90 мкл 0 стандарта (тщательно перемешайте)

6. ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

6.1 Основные замечания

- Перед использованием выдержите все реагенты при комнатной температуре. Тщательно перемешайте все реагенты и образцы перед использованием, легко переворачивая без образования пены.
- После начала теста все этапы нужно выполнять без перерывов.
- Используйте каждый раз новые пластиковые пипетки для каждого стандарта, образца и контроля для предотвращения перекрестного загрязнения.
- Абсорбция является функцией времени инкубации и температуры. Приготовьте все необходимое перед началом теста, чтобы не тратить время во время самого теста.
- В основном энзимная реакция является линейно пропорциональной времени и температуре.

6.2 Процедура анализа

В каждом анализе следует использовать калибровочную кривую.

1. Пометьте стрипы, которые будут использованы.
2. Пипеткой внесите **20 мкл** каждого стандарта, контроля и образца, используя новые наконечники, в соответствующие лунки планшета.
3. Добавьте **200 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку планшета. Тщательно перемешайте на протяжении **10 сек**. Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
4. Инкубируйте в течение **60 минут** при комнатной температуре.
5. Вытряхните содержимое лунок.
Промойте разведенным промывочным раствором 4 раза (**400 мкл** на лунку). Резко встряхните планшетку над фильтровальной бумагой и промокните остатки влаги.
Важное замечание: Чувствительность и точность анализа зависит от правильного исполнения процедуры промывания!
6. Добавьте **200 мкл** раствора субстрата в каждую лунку.
7. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре.
8. Добавьте **100 мкл** стоп реагента в каждую лунку.
9. Измерьте оптическую плотность каждой лунки при **450 нм ± 10 нм** в течение **10 минут** после добавления стоп раствора.

6.3 Вычисление результатов

1. Вычислите среднюю абсорбцию для каждого стандарта, контроля и образца.
2. Постройте стандартную кривую откладывая среднюю абсорбцию полученную для каждого стандарта против его

концентрации при значении абсорбции на оси У и концентрации на оси Х.

3. Используя значение средней абсорбции для каждого образца, определите соответствующую концентрацию на стандартной кривой.
4. Автоматические данные, компьютерные программы, кубический сплайн, 4 PL или логарифмический также дают хорошие результаты.
5. Концентрация образцов может считаться со стандартной кривой. Образцы с концентрацией выше, чем концентрация наивысшего стандарта необходимо разбавить. При вычислении концентрации этот фактор разбавления необходимо учитывать.

6.3.1 Типичный пример стандартной кривой:

Стандарт	нг/мл	Оптич. единицы
Стандарт 0	0	1.93
Стандарт 1	0,1	1.76
Стандарт 2	0,3	1.39
Стандарт 3	1,0	0.87
Стандарт 4	3,0	0.47
Стандарт 5	10,0	0.23

7. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Настоятельно рекомендуется, чтоб каждая лаборатория установила собственные нормальные и патологические значения.

При изучении очевидно здоровых взрослых, используя данный набор, были получены следующие данные:

Женщины

Возраст (лет)	n	Среднее (нг/мл)	2.5-ый процентиль (нг/мл)	95-ый процентиль (нг/мл)
0-10	29	0.39	0.02	0.86
11-17	17	1.36	0.25	2.78
18-53	66	2.22	0.75	3.89
54-82	26	1.32	0.35	2.49

Мужчины

Возраст (лет)	n	Среднее (нг/мл)	5-ый процентиль (нг/мл)	95-ый процентиль (нг/мл)
0-10	34	0.40	0.01	1.31
11-17	16	1.75	0.33	3.30
18-53	36	2.15	0.45	4.20
54-82	44	1.95	0.30	3.93

8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контроли согласно государственным и федеральным правилам. Использование контроля дает возможность повседневной оценки достоверности результатов. Используйте контроли и нормального уровня, и патологического.

Контроли и соответствующие результаты QC лаборатории указаны в QC сертификате, что поставляется с набором. Величины, указанные в данном сертификате соответствуют лоту набора и должны использоваться для сравнения результатов.

Также рекомендуется использовать национальные и международные программы оценки качества для подтверждения достоверности результатов.

Используйте соответствующий статистический метод для анализа величин контроля. Если результаты анализа не попадают в установленные границы материалов контроля, результаты являются не достоверными.

В таком случае проверьте следующие данные: устройства пипетирования и измерения времени; фотометр; даты пригодности реагентов, условия хранения и инкубации, методы аспирации и промывания.

Если не обнаружено ошибки, обратитесь к Вашему поставщику.

9. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

9.1 Динамический диапазон анализа

Диапазон анализа находится между 0,021-10 нг/мл

9.2 Специфичность антител (перекрестная реактивность)

Следующие материалы были проверены на перекрестную реактивность.

(Смотрите оригинал инструкции)

9.3 Чувствительность

Аналитическая чувствительность была вычислена для среднего минус два стандартных отклонения 20 дублей анализа 0 стандарта и равно 0,021 нг/мл.

9.4 Воспроизводимость

В анализе				Между анализами			
Сыворотка	n	среднее нг/мл	КВ %	Сыворотка	n	среднее нг/мл	КВ %
1	20	1.2	5.3	1	40	4.3	8.3
2	20	0.7	9.2	2	40	3.0	8.1
3	20	8.0	6.9	3	40	1.0	8.7

Между лотами (См. оригинал инструкции).

9.5 Восстановление

Образцы были обогащены добавлением андростенедина раствора при известной концентрации 1:1.

Ожидаемые значения были вычислены добавлением половины значения, определенных для неразбавленных образцов и половины значений для известных растворов. % восстановления был вычислен умножением коэффициента измерений и ожидаемых значений на 100.

(См. таблицу в оригинале инструкции).

9.6 Линейность

(См. таблицу в оригинале инструкции).

10. ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

10.1 Влияющие вещества

Неправильное обращение с образцами или модификация теста может влиять на результаты.

Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0, 5 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не влияют на результаты анализа.

10.2 Влияние лекарств

До сегодняшнего дня не известны вещества (лекарства), что влияют на результаты анализа.

10.3 Эффект прозоны

В данном тесте эффект прозоны не наблюдался.

11. ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

11.1 Достоверность результатов

Тест должен проводиться точно с инструкцией производителя. Также пользователь должен следовать национальным стандартам и законам. Это особенно относится к использованию контролей. Очень важно всегда включать в анализ достаточное количество контролей для оценки достоверности и точности анализа.

Тестовые результаты достоверные, только если контроли попадают в указанные границы и если все другие параметры соответствуют спецификации.

11.2 Терапевтическое заключение

Терапевтическое заключение никогда не должно основываться на результатах лабораторных исследований. Оно должно учитывать полностью всю клиническую картину пациента.

Тестовые результаты не должны быть единственным фактором, на основе которого ставится терапевтическое заключение.

11.3 Надежность

Любые изменения набора и/или смешивания компонентов разных лотов могут отрицательно влиять на результаты теста.

Такие модификации не могут быть причиной для замены набора.

Любые повреждения при транспортировке набора не является под ответственностью производителя.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com