

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для кількісного імуноферментного визначення тестостерону

(Тестостерон–БЕСТ)

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «Тестостерон–БЕСТ» призначений для кількісного *in vitro* визначення тестостерону у сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу. Набір «Тестостерон–БЕСТ» рекомендований для проведення аналізу в дублікатах 40 невідомих, 6 калібрувальних проб, однієї проби контрольної сироватки й однієї проби для визначення оптичної густини розчину тетраметилбензидину (ТМБ) при використанні всіх стрипів одночасно. У випадку дробового застосування необхідна обов'язкова постановка всіх каліброваних проб для кожного окремого аналізу.

2. СКЛАД НАБОРУ

Планшет - полістирольний, з іммобілізованими моноклональними антитілами до тестостерону **1 упаковка.**

Кон'югат – тестостерон - пероксидаза

1 флакон

Калібрувальні проби (КП): 7 флаконов

КП№1- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0 нмоль/л тестостерону,

КП№2- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0,5 нмоль/л тестостерону,

КП№3- 1 флакон, 0,5 мл, містить 1,5 нмоль/л тестостерону,

КП№4- 1 флакон, 0,5 мл, містить 5 нмоль/л тестостерону,

КП№5- 1 флакон, 0,5 мл, містить 15 нмоль/л тестостерону,

КП№6- 1 флакон, 0,5 мл, містить 50 нмоль/л тестостерону,

КП№7 1 флакон, 0,5 мл, містить 60 нмоль/л тестостерону,

КС (контрольна сироватка) містить відому кількість тестостерону, діапазон концентрацій зазначений на етикетці флакону.

1 флакон

Промиваючий розчин

1 флакон

ТМБ (Розчин тетраметилбензидина)

1 флакон

СР (Стоп-реагент)

1 флакон

Перерахунок 1 нмоль/л = 0.288 нг/мл

3. АНАЛІТИЧНІ Й ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ.

3.1. Чутливість. Мінімальна достовірно обумовлена набором концентрація тестостерону в сироватці крові людини не перевищує 0,2 -0,3 нмоль/л.

3.2. Специфічність. Перехресна реакція антитіл до тестостерону з іншими стероїдами менше 1%.

3.3. Діапазон очікуваних значень. В нормі у дорослих чоловіків 12 – 38 нмоль/л, жінки 0,35 – 4,5 нмоль/л.

4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не пікетувати розчини ротом; всі використані матеріали дезінфікувати відповідно до вимог чинного законодавства.

5. ОБЛАДНАННЯ Й МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ ПРИ РОБОТІ З НАБОРОМ:

Одно- Фотометр вертикального сканування, шейкер – інкубатор, вошер, центрифуга лабораторна на 2,5- 3,0 тис. об / хв., холодильник побутовий, піпетки напівавтоматичні одно каналні і багатоканальні рукавички гумові хірургічні, колба мірна, папір фільтрувальний, вода дистильована.

6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ.

6.1. Узяття крові для аналізу слід проводити з використанням стандартних процедур для венозної крові, а зразки сироватки повинні бути звільнені від клітин крові центрифугуванням. Після центрифугування сироватка крові повинна бути перенесена в окрему пробірку.

6.2. Слід уникати використання в аналізі плазми крові, гемолізованої, мутної або гіперліпемічної сироватки. Не допускається використання як консервант азиду натрію.

6.3. Зразки сироватки крові слід використати протягом 24 годин з моменту отримання за умови їх зберігання при +2...8°C. Для більш тривалого зберігання зразки необхідно заморозити при температурі нижче -20°C. Уникати повторного заморозування зразків.

7. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗІВ

7.1 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ.

7.1.1. Стрипи. Перед розтином пакет із стрипами необхідно витримати при кімнатній температурі (+18...25 °C) не менше 30 хвилин. Розкрити пакет і переставити на вільну рамку необхідну кількість стрипів. Залишок упакувати у фольгований пакет та зберігати до кінця терміну придатності при +2...8°C. Рідкі калібрувальні проби і контрольна сироватка готові до використання. Для відновлення ліофілізованих калібрувальних проб та контрольної сироватки перед розкриттям флаконів легким постукуванням струсити частинки, які прилипли до стінок флаконів або до кришок . Відкрити флакони і покласти кришки

перевернутими на суху поверхню. У кожний флакон з калібрувальної пробій та контрольної сироваткою внести по 0,5 мл дистильованої води і закрити кришками. Витримати флакони протягом 10 хвилин при кімнатній температурі без перемішування. Потім, акуратно нахилиючи і обертаючи флакони, перемішати їх вміст до повного розчинення, уникаючи піноутворення. Протягом наступних 10 хвилин витримати флакони при кімнатній температурі, періодично перемішуючи.

- 7.1.2. Кон'югат готовий до використання. Витрата кон'югата на один стріп складає 1,5 мл
- 7.1.3. Промиваючий розчин. Необхідну кількість розчину розвести дистильованою водою в 20 разів. *Наприклад: 5 мл промиваючого розчину + 95 мл води, що дистильює. Ретельно перемішати, уникаючи піноутворення.*
- 7.1.4. Розчин тетраметилбензидина (ТМБ) готовий до використання. Витрата ТМБ на один стріп складає 1,15 мл
- 7.1.5. Стопи-реагент готовий до використання. Витрата стоп-реагенту на один стріп складає 1,15 мл
- 7.1.6. Всі реагенти перед проведенням аналізу мають бути ретельно перемішані і доведені до кімнатної температури (+18...25 °С).

7.2. Постановка аналізу

7.2.1. Скласти протокол маркування лунок. Лунки промаркувати наступним чином:

- A1, A2 - № 1 - для вимірювання величини оптичної густини розчину ТМБ ;
- B1, B2 - № 2 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 1;
- C1, C2 - № 3 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 2;
- D1, D2 - № 4 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 3;
- E1, E2 - № 5 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 4 ;
- F1, F2 - № 6 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 5;
- G1, G2 - № 7 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 6 ;
- H1, H2 - № 8 - для вимірювання величини оптичної густини КП №6.
- A3, A4 - №9 - для вимірювання величини оптичної густини контрольної сироватки.

7.2.2. Внести у відповідні лунки по 20 мкл каліброваних проб і контрольної сироватки, у лунки, що залишилися, по 20 мкл досліджуваної сироватки крові в дублях.

Примітка: Загальний час внесення каліброваних проб, контрольної сироватки й досліджуваних зразків не повинен перевищувати 15 хвилин, щоб уникнути неправильних результатів дослідження.

7.2.3. В усі лунки, крім лунок A1 і A2, внести по 150 мкл кон'югату.

7.2.4. Інкубувати стріпи при струшуванні протягом 30 хвилин у термо-шейкері при температурі +37°C зі швидкістю 500 –800 об/хв. або 60 хвилин при кімнатній температурі.

7.2.5. По закінченню інкубації вилучити вміст лунок у спеціальну ємність для збору інфікованого матеріалу й промити лунки чотири рази. При кожному промиванні в усі лунки додати по 300 мкл промиваючого розчину, приготовленого згідно п. 7.1.4, з наступним видаленням рідини в ємність для інфікованого матеріалу. По закінченню промивання ретельно вилучити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі стріпами в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу до зникнення слідів наявності рідини в лунках стріпів.

7.2.6. негайно внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубувати стріпи в темряві при кімнатній температурі (+18...25°C) протягом 15 хвилин залежно від ступеню розвитку забарвлення.

Примітка: максимальна оптична густина не повинна перевищувати меж лінійного виміру спектрофотометра. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу. Рекомендована максимальна оптична густина не більше 2,5 од. ОГ.

7.2.7. Зупинити ферментну реакцію додаванням у кожен лунку по 100 мкл стоп-реагенту. Струснути на шейкері протягом 1–2 хв.

7.2.8. Якщо неможливо виміряти оптичну густину у лунках планшета безпосередньо після виконання п. 7.2.7, тоді слід мати на увазі, що забарвлення в лунках планшета стабільна не більше 20 хвилин при температурі +18 ... 25.

Примітка: максимальна оптична густина не повинна перевищувати меж лінійного виміру спектрофотометра. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу. Рекомендована максимальна оптична густина не більше 2,5 од. ОГ

8. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.

8.1. Виміряти на фотометрі вертикального сканування ОГ в лунках при довжині хвилі 450 нм.

8.2. При реєстрації результату необхідно відняти значення ОГ у лунках A1 і A2 від ОГ усіх останніх лунок.

Примітка: середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках A1 та A2 не повинно перевищувати 0,09 од.ОГ.

9. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ.

9.1. Побудувати калібровочний графік залежності ОГ від концентрації тестостерону (нмоль/л) в калібровочних пробах (Малюнок). Зовнішній вигляд графіка залежить від способу перетворення вісей.

Примітка: для побудови калібрувального графіка на масштабному папері необхідно використовувати формулу 1 або 2. Якщо програма фотометра дозволяє віднімати величину ОГ в лунках A1 та A2 від значень ОГ усіх останніх лунок, то для розрахунку кожної калібровочної або досліджуваної проби використовувати формулу (1)

$$B / B_1 \times 100\% ,$$

де V - значення оптичної густини в лунках, що містять калібрувальні або досліджувані проби ,

V_1 - середнє арифметичне значення оптичної густини лунки з калібрувочною пробєю №1

Якщо програма фотометра не дозволяє віднімати величину ОГ в лунках A1 та A2, то використовувати формулу (2)

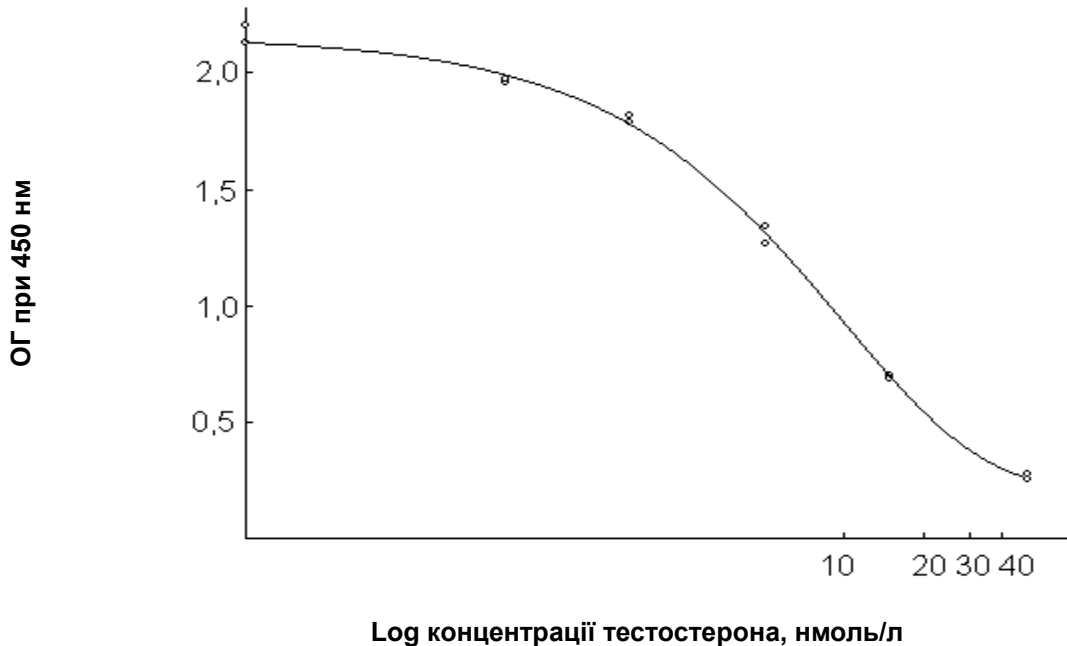
$$\frac{(V-V_1)}{(V_1-V_1)} \times 100\% ,$$

де V_1 - середнє арифметичне значення оптичної густини лунках A1 та A2.

9.2. Визначити зміст тестостерону в пробах за калібрувальним графіком.

9.3. Для зразків сироватки крові з показниками ОГ вище ОГ нульового калібратора (V1) приймати значення концентрації «нижче 0,2 нмоль/л».

Екстраполяція калібрувального графіка для значень концентрації тестостерону, що перевищують номінал КП №6, не допускається. При наявності таких випадків приймати значення концентрації досліджувального зразка «вище концентрації КП №6»



УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

Набір зберігати і транспортувати при (2-8)°С.

Промиваючий розчин підготовлений до використання зберігати не більш 30 діб.

Допускається транспортування при температурі до 25°С не більше 5 діб. Не допускати заморожування!

Термін придатності набору реагентів – 14 місяців з дня випуску.

З питань, що стосуються якості набору, звертатися: в **ТОВ «Бест Діагностик»** за адресою:

04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9, тел./факс: (044) 500-57-11 E-mail: info@bestdiagnostic.com.ua

Виробник залишає за собою право вразі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції