

НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНДРОСТЕНЕДІОНУ В СИРОВАТЦІ АБО ПЛАЗМІ

1038-17, Androstenedione ELISA

Каталог. №: 1038-17

Методика від 01-14-2013

Виробник : DAI, (США)



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

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Кількість тестів	96 тестів
Тест	4-Androstenedione ELISA
Метод	Імуноферментний аналіз
Принцип	Конкурентний Кон'югованої Пероксидази ІФА
Діапазон визначення	0-10 нг/мл
Зразок	50 мкл сироватки
Специфічність	100 %
Чутливість	0.04 уг/мл
Загальний час	~ 80 хвилин
Термін придатності	12-14 місяців

*Лабораторні результати ніколи не можуть бути єдиною базою для медичного висновку. Історії хвороби пацієнта і подальші тести повинні бути прийняті до уваги.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір DAI Androstenedione ELISA є конкурентним імуноферментним колориметричним методом для кількісного визначення концентрації Андростенедіону в сироватці або плазмі людини. **Призначений тільки для лабораторного використання.**

РЕЗЮМЕ І ОПИС (Див. оригінал інструкції англ. мовою).

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Андростенедіон (антиген) в зразку конкурує з пероксидазою хрому (HRP) за зв'язування на обмежену кількість сайтів анти-Андростенедіону (антитіло) в мікропланшеті (тверда фаза). Після інкубації проводиться промивання. Після цього ферментний HRP у зв'язаній фракції реагує з субстратом (H_2O_2) і субстратом ТМБ, що призводить до забарвлення в синій колір, який змінюється на жовтий після додавання стоп-розчину. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна концентрації дегідроепіандростерону сульфату в зразку. Концентрації Андростенедіону в зразку розраховують на основі аналізу наборів стандарту. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна концентрації Андростенедіону в зразку.

РЕАГЕНТИ, МАТЕРІАЛИ ТА ОБЛАДНАННЯ

1. Матеріали, які входять до складу набору

- Стандарти Андростенедіону 6x (1 флакон = 1 мл)
STD0
STD1
STD2
STD3
STD4
STD5
- Контроль Андростенедіону (1 пляшка) 1мл
- Кон'югат (1 пляшка) 12 мл
Кон'югат Андростенедіону-HRP
- Мікропланшет (1 штука)
IgG Анти-Андростенедіоне, нанесені на планшет
- ТМБ Субстрат (1 флакон) 15 мл
 H_2O_2 -ТМБ 0.25 г/л
(Уникати попадання на шкіру)
- Стоп-розчин (1 флакон) 15 мл
Сірчана кислота 0.15 моль/л
- Концентрат Розчину для розведення зразків 5X (1 пляшка) 50 мл
NaCl 160 г/л; Твін-2010 г/л 0.2 М фосфатний буфер, pH 7.4

2. Необхідні матеріали, що не входять до набору

Дистильована вода.

3. Допоміжні матеріали та прилади

- Автоматичний диспенсер.
- Мікропланшетний зчитувач (450 нм).

Примітки

Зберігати всі реагенти при 2- 8 °С в темноті.
Відкрити Реагент 4 (антитіло) тільки тоді, коли воно при кімнатній температурі і закрити відразу після використання.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Реагент містить Проклін 300 в якості консерванту.
- Уникати впливу на реагент ТМБ/ H_2O_2 прямого сонячного світла, металів або окислювачів.
- Дотримуватись максимальної точності при приготуванні та внесенні реагентів.
- Не використовувати реагенти з різних партій.
- Цей метод дозволяє визначити Андростенедіон від 0.1 нг/мл до 10 нг/мл.
- Клінічне значення визначення Андростенедіону може бути недейсним, якщо пацієнт вживав кортизон або натуральні чи синтетичні стероїди.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

1. Підготовка Стандарту ($S_0...S_5$) та Контролю

Стандарти мають наступні концентрації Андростенедіону:

нг/мл	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5
	0	0.1	0.4	1.2	4.0	10.0

Стабільність: до закінчення терміну придатності, зазначеного на упаковці, при 2-8 °С.

Після відкриття стандарти є стабільними на протязі 6 місяців при 2-8 °С.

2. Підготовка взірця

Визначення Андростенедіону може бути виконано як в плазмі, так і в сироватці. Зберігати зразки при -20 °С, якщо визначення не виконується в той же день.

Розвести зразки з концентраціями вище 10 нг/мл (1/2) з Розріджувачем зразка.

ПРОЦЕДУРА

Оскільки необхідно виконати визначення у двох примірниках, підготувати дві лунки для кожної з п'яти точок стандартної кривої (S_0-S_5), дві для кожного зразка, одну для Бланка.

Реагент	Стандарт	Взірець	Бланк
Взірець		25 мкл	
Стандарт S_0-S_5	25 мкл		
Контроль	25 мкл		
Кон'югат	100 мкл	100 мкл	
Інкубувати на протязі 60 хвилин при 37 °С. Видалити вміст кожної лунки, промити лунки з 300 мкл дистильованої води. Повторити процедуру промивки з повним зливанням води.			
Субстрат ТМБ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубувати на протязі 15 хвилин при КТ (22-28 °С) в темноті.			
Стоп Розчин	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Зчитати щільність (E) при 450 нм в порівнянні з Бланком.			

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна перевіряти контролі при нормальних, високих і низьких рівнях Андростенедіону для моніторингу проведення тесту. Ці контролі повинні розглядатися як невідомі і визначати значення для них в кожній процедурі тесту. Графіки контролю якості повинні бути збережені для аналізу характеристик реагентів. Відповідні статистичні методи варто використовувати для з'ясування тенденцій. Кожна лабораторія повинна встановити межі аналізу. Інші параметри, які повинні бути перевірені, включають 80, 50 і 20% перетину стандартної кривої для визначення відтворюваності. Крім того, максимальне поглинання має узгоджуватися з минулим досвідом. Значне відхилення від показників вказує на непомічену зміну в умовах або деградацію реагентів в наборі. Свіжі реагенти повинні бути використані, щоб визначити причину відхилення.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

1. Проведення тесту

Зразки, забруднені мікробіологічно, не повинні використовуватися в аналізі. Високо ліпемічні або гемолізовані зразки також не повинні використовуватися. Важливо, щоб час реакції для кожної лунки був стабільним для відтворюваних результатів. Піпетування проб не повинно займати більше десяти хвилин, щоб уникнути зсуву результатів тесту. Якщо використовується більше одного планшета,

рекомендується будувати додаткову калібрувальну криву. Додавання розчину субстрату провокує кінетичну реакцію, яка зупиняється додаванням стоп-розчину. Таким чином, додавання субстрату і стоп-розчину повинно проводитись в тій же послідовності, щоб усунути будь-які відхилення часу в ході реакції. Планшетний рідер вимірює вертикально. Не торкатися нижньої частини лунки. Недотримання видалення розчину на етапі аспірації або декантування може призвести до неточних результатів.

2. Інтерпретація

Якщо комп'ютерні програми використовуються для розрахунку результатів тесту, потрібно, щоб прогнозовані значення калібраторів опинилися в межах 10% від відповідних концентрацій.

РЕЗУЛЬТАТИ

1. Середні значення абсорбції

Підрахувати середнє значення оптичної щільності (Em) для кожної точки калібрувальної кривої (S0-S5) і в кожному зразку.

2. Стандартна крива

Відкласти значення поглинання стандартів проти концентрацій. Провести оптимальну криву через точки на графіку (4-параметровий Логістичний метод).

3. Підрахунок результатів

Провести інтерполяцію значень зразків на стандартну криву для отримання відповідних значень концентрацій, виражених в нг/мл.

4. Діапазон регулювання

Будь ласка, зверніться за інформацією щодо діапазону COA для даного лота. Отримані значення для контролю повинні входити в зазначений діапазон.

КОНТРОЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ

Контрольні значення Сироватки або плазми Андростенедіону:

Жінки	Фолікулярна фаза	0.75-3.1 нг/мл
	Лютеїнові фаза	0.94-3.2 нг/мл
Чоловіки		0.60-2.7 нг/мл

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Точність

1.1.1. Варіація в аналізі

Точність в аналізі визначається повторними (20X) визначеннями трьох різних контрольних сироваток в одному аналізі. І складає $\leq 10.0\%$.

1.1.2. Варіація між аналізами

Точність між аналізами визначалася повторним (10X) вимірюванням трьох різних контрольних сироваток в різних лотах. І складає $\leq 9.5\%$.

2. Специфічність

Перехресна реакція антитіл, підрахована при 50% відповідно до Abraham, наведена в таблиці:

Androstenedione	100 %
5 α -dihydrotestosterone	0.05 %
DHEA	0.05 %
Epitestosterone	0.04 %
DHEA-S	0.027 %
Cortisol	0.008 %
Progesterone	0.007 %
Estrone	0.007 %

3. Точність

Відновлення при додаванні до зразка 0.4-0.8-1.6-3.2 нг/мл Андростенедіону дало середнє значення (\pm стандартне відхилення) $10.91\% \pm 5.61\%$ по відношенню до початкової концентрації. Розведення, виконані на трьох сироватках 2 - 4 - 8 - 16 разів, дали середнє значення (\pm SD) $107.18\% \pm 3.03\%$.

4. Чутливість

Найнижча концентрація Андростенедіону, що визначається, і яку можна відрізнити від нульового стандарту, становить 0.01 нг/мл при 95% довірчому інтервалі.

5. Кореляція з PIA

Набір Андростенедіон ІФА був порівняний з іншим комерційно доступним Андростенедіон аналізом. Зразки сироватки 16 жінок і 21 чоловіка аналізували відповідно в обох тест-системах.

Лінійна крива регресії була розрахована за наступним рівнянням:

$$y = 0.928x + 0.02$$

$$R = 0.946 \quad (r^2 = 0.895)$$

Набір Андростенедіону (Y) був порівняний з попереднім набором Андростенедіону Diametra (X).

78 зразків сироватки були проаналізовані.

Лінійна крива регресії була розрахована:

$$(Y) = 0.079 * (X) + 0.53$$

$$r^2 = 0.825$$

ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

Реагенти повинні бути утилізовані відповідно до місцевих правил.



ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

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