

# НАБІР РЕАГЕНТІВ ТЕСТОСТЕРОН ELISA

## Testosterone ELISA

Каталог. №: EIA-1559

Дата випуску інструкції: 2009/06  
Версія 8.0



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

### 1. ВСТУП

#### 1.1 Призначення

Даний набір є імуноферментним аналізом для кількісного *in vitro* діагностичного визначення Тестостерону у сироватці та плазмі.

#### 1.2 Короткий опис та пояснення

Тестостерон (17 бета-гідрокси-4-андростерон-3-один) стероїд C19 з ненасиченим зв'язком між C-4 та C-5, кетонною групою в C-3 і гідроксильною групою в бета позиції в C-17. Цей стероїдний гормон має молекулярну масу 288,47.

Тестостерон – це найбільш важливий андроген, який секретується в кров. У чоловіків, тестостерон первинно секретується клітинами Лейдига, у жінок 50% циркулюючого гормону утворюється від периферійної конверсії андростендіону, а 25% - з яєчників, і 25% - адренальних залоз.

Тестостерон відповідає за розвиток вторинних статевих ознак у чоловіків і його вимірювання може бути корисним при оцінюванні гіпогонадних станів.

У жінок високий рівень тестостерону зазвичай зустрічається при гірсутизмі і вірилізації, полікістозі яєчників, пухлинах яєчників, пухлинах наднирників і гіперплазії надниркових залоз.

У чоловіків високий рівень тестостерону асоціюються з гіпоталамічним пітуїтаризмом, опухлями яєчок, вродженою адренальною гіперплазією і раком простати.

Низькі рівні тестостерону можуть бути у пацієнтів при наступних захворюваннях: гіпопітуїтаризмі, синдромі Кляйнфельтера, тестикулярній фемінізації, крипторхізмі та видаленні яєчок, ферментних дефектах і деяких аутоімунних захворюваннях.

### 2. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Набір DRG Тестостерон ELISA, твердофазний ферментно-зв'язаний імуносорбентний аналіз, який базується на принципі конкурентного зв'язування.

Мікротитрувальні лунки покриті моноклональним [мишачим] антитілом, спрямованим до унікальної антигенної ділянки на молекулі тестостерону. Ендогенний тестостерон зразка пацієнта конкурує з кон'югатом пероксидази тестостерону з пероксидазою для зв'язування з покритим антитілом. Після інкубації незв'язаний кон'югат змивають.

Кількість зв'язаного кон'югату пероксидази зворотно пропорційно концентрації тестостерону в зразку. Після додавання розчину субстрату інтенсивність розробленого кольору зворотно пропорційна концентрації тестостерону у зразку пацієнта.

### 3. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Для діагностики *in vitro*. Тільки для професійного використання.
- Всі реагенти цього тестового набору містять людську сироватку або плазму, яка протестована і підтверджена, що є негативною на ВІЛ I/II, HbsAg та HCV схваленими процедурами FDA. Однак, всі реагенти слід розглядати як потенційно небезпечні у використанні та під час утилізації.
- Перед початком аналізу повністю та обережно прочитайте інструкції. Використовуйте дійсну версію інструкції, яка постачається з набором. Переконайтеся, що все зрозуміли.
- Мікропланшет містить відривні смужки. Не використані лунки потрібно зберігати при температурі 2°C до 8°C у герметичній упаковці та використовувати з рамкою, яка постачається.
- Піпетування зразків та реагентів слід робити якомога швидше та в одній послідовності для кожного етапу.
- Використовуйте окремі резервуари для кожного реагенту. Особливо це стосується резервуарів для субстрату. Використання резервуару для розчину субстрату, який до того використовувався для розчину кон'югату, може спричинити забарвлення розчину. Не виливайте реагенти назад у флакони тому, що це може призвести до забруднення.
- Ретельно перемишайте вміст лунок мікропланшета, щоб забезпечити хороші результати тесту. Не використовуйте мікролунки повторно.

- Не допускайте висихання лунок під час аналізу; додавайте реагенти негайно після завершення етапу промивання.
- Дозвольте реагентам досягнути кімнатної температури (21 - 26°C) перед початком аналізу. Температура може вплинути на абсорбцію зчитувань аналізу. Однак, на значення зразків пацієнтів це не впливає.
- Ніколи не піпетуйте ротом та уникайте контакту реагентів та зразків зі шкірою та слизовими оболонками.
- Не куріть, не їжте, не пийте та не використовуйте косметику у місцях обробки зразків або наборів реагентів.
- Одягайте одноразові латексні рукавички під час обробки зразків та реагентів. Мікробне забруднення реагентів або зразків може дати неправильні результати.
- Обробку слід здійснювати відповідно до процедур, які визначені відповідними національними правилами або нормами щодо безпеки біологічної небезпеки.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, який вказаний на етикетці набору.
- Всі вказані об'єми повинні виконуватися згідно з протоколом. Оптимальні результати тестувань можна отримати тільки при використанні калібрувальних піпеток і зчитувачів мікротитрових пластин.
- Не змішуйте або не використовуйте компоненти з наборів з різними номерами лотів. Рекомендується не замінювати лунки різних пластин навіть того ж самого лоту. Ці набори можуть транспортуватися або зберігатися за різних умов, а характеристики зв'язування можуть дещо відрізнятись.
- Уникайте контакту зі *Стоп Розчином*, який містить 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Це може призвести до подразнення шкіри та опіків.
- Деякі реагенти містять Proclin 300, BND i/або MIT в якості консервантів. У випадку попадання в очі або на шкіру, негайно промийте водою.
- TMB субстрат має подразнюючу дію на шкіру та слизову. У випадку контакту, промийте очі достатньою кількістю води, а шкіру – водою з милом. Помийте забруднені об'єкти перед повторним використанням. У випадку вдихання, виведіть людину на свіже повітря.
- Хімікати та приготувані або використані реагенти слід розглядати як небезпечні відходи відповідно до правил або вимог національної біологічної небезпеки.
- Щодо інформації про небезпечні речовини, які входять до складу набору читайте у паспорті безпеки хімічної продукції. Паспорт безпеки хімічної продукції для цього продукту доступний за запитом безпосередньо від DRG.

### 4. РЕАГЕНТИ

#### 4.1 Реагенти, які постачаються

- Мікротитрові лунки**, 12 x 8 (відривних) стрипів, 96 лунок; Лунки покриті мишачим моноклональним антитілом до тестостерону.
- Стандарт (стандарт 0-6)**, 7 фл., 1 мл, готовий до використання  
Концентрації: 0-0.2-0.5-1-2-6-16 нг/мл  
Конверсія: 1 нг/мл=3,467 нмоль/л  
містить 0.03% Прокліну 300 + 0.005% гентаміцину в якості консерванту.
- Ферментний кон'югат**, 1 фл., 25 мл, готовий до використання.  
Тестостерон, кон'югований з пероксидазою хрому  
\* містить 0.03% Прокліну 300, 0.015% BND і 0.10% MIT в якості консерванту.
- Розчин субстрату** 1 фл., 25 мл, готовий до використання;  
Тетраметилбензидин (TMB).
- Стоп розчин**, 1 фл., 14 мл, готовий до використання;  
Містить 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.  
Уникайте контакту зі стоп розчином. Він може викликати подразнення шкіри та опіки.
- Промивний розчин** (40x), 1 фл., 30 мл  
див. «Підготовка реагентів».

\*BND = 5-бромо-5-нітро-1,3-діоксан  
MIT = 2-метил-2H-ізотіазол-3-один

**Примітка:** додатковий 0 стандарт для розведення зразка доступний за запитом.

#### 4.2 Необхідні матеріали, які не постачаються

- Мікропланшетний відкалібрований зчитувач, який здатний зчитувати при 450 nm ±10 nm (напр. Мікропланшетний зчитувач компанії DRG).
- Відкалібровані прецизійні піпетки.
- Абсорбуючий папір.
- Дистильована або деіонізована вода.
- Таймер
- напівлогарифмічний графічний папір або ПЗ для обробки даних.

### 4.3 Умови зберігання

За умови зберігання при температурі 2-8°C невідкриті реагенти будь-якої реактивності до закінчення терміну придатності. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну. Всі відкриті реагенти слід зберігати при температурі 2 – 8 °C. Мікротитрові лунки необхідно зберігати при температурі 2 - 8 °C. Як тільки упаковку з фольги відкрили, потрібно негайно щільно закрити її після використання.

### 4.4 Підготовка реагентів

Доведіть всі реагенти, які будуть використовуватися до кімнатної температури.

### Промивний розчин

Додайте 1170 мл деіонізованої води до промивного буферу (30 мл), щоб досягнути кінцевого об'єму 1200 мл. Розведений промивний буфер стабільний протягом 2 тижнів при кімнатній температурі.

### 4.5 Утилізація набору

Утилізацію набору слід здійснювати відповідно до національних правил. Спеціальна інформація про цей продукт надана у Паспорті безпеки хімічної продукції (див. розділ 13).

### 4.6 Пошкодження набору

У випадку будь-якого серйозного пошкодження тестового набору або його компонентів, слід повідомити DRG у письмовій формі, протягом одного тижня після отримання набору. Серйозно пошкоджені окремі компоненти не повинні використовуватися для тестового прогону. Їх потрібно зберігати доти, поки не буде знайдено остаточне рішення. Після цього їх потрібно утилізувати відповідно до офіційних правил.

## 5. ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКА

Сироватку або плазму (ЕДТА-, Гепаринову – або цитратну плазму) можна використовувати в цьому аналізі.

Не використовуйте гемолітичні, іктеричні або ліпемічні зразки.

**Примітка:** зразки, які містять азид натрію не потрібно використовувати в аналізі.

### 5.1 Забір зразків

#### Сироватка:

Зробіть забір шляхом венепункції (напр. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), дайте можливість згорнутися і відділіть сироватку центрифугуванням при кімнатній температурі. Не центрифугуйте до повного згортання. Пацієнтам, які проходять антикоагулянтну терапію, необхідно збільшити тривалість процесу згортання крові.

#### Плазма:

Цільну кров слід зібрати у центрифужні пробірки, які містять антикоагулянт та центрифугувати негайно після забору. (напр. для ЕДТА плазма Sarstedt Monovette – червона кришечка - #02.166.001; для Гепаринової плазми Sarstedt Monovette – оранжева кришечка - #02.165.001; для Цитратна плазма Sarstedt Monovette – зелена кришечка - #02.167.001.)

### 5.2 Зберігання та підготовка зразка

Зразки повинні бути закритими і зберігатися до 5 днів при температурі 2-8°C до проведення аналізу.

Для більш довготривалого зберігання зразки слід заморозити тільки один раз до -20°C і зберігати до проведення аналізу. Розморжені зразки слід інвертувати кілька разів до початку тестування.

### 5.3 Розведення зразків

Якщо на початку аналізу, зразок містить більше ніж найвищий стандарт, зразки слід розвести 0 стандартом і повторно проаналізувати, як описано у розділі Процедура Аналізу.

Для обчислення концентрацій, цей фактор розведення слід врахувати.

#### Приклад:

- Розведення 1:10: 10 мкл сироватки + 90 мкл 0 стандарту (ретельно перемішайте);
- Розведення 1:100: 10 мкл розведення, а) 1:10 + 90 мкл 0 стандарту (ретельно перемішайте).

## 6. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

### 6.1 Загальні зауваження

- Перед використанням витримайте всі реагенти при кімнатній температурі. Всі реагенти слід перемішати не утворюючи при цьому піни.
- Після початку тесту всі етапи слід виконувати без перерв.
- Кожного разу використовуйте нові одноразові пластикові наконечники піпетки для кожного стандарту, контролю або зразка, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Абсорбція є функцією часу інкубації та температури. Рекомендується, щоб до початку аналізу всі реагенти були приготовлені, кришечки зняті,

всі необхідні лунки закріплені на тримачі та ін. Це забезпечить однаковий час для кожного етапу піпетування без переривання.

- Як правило, ферментна реакція є лінійно-пропорційною до часу та температури.

### 6.2 Процедура тесту

Кожен запуск повинен включати стандартну криву.

- Закріпіть необхідну кількість мікротитрових лунок у тримачі.
- За допомогою нових одноразових наконечників, внесіть **25 мкл** кожного **Стандарту, Контролю і зразків** у відповідні лунки.
- Внесіть **200 мкл Ферментного Кон'югату** у кожну лунку. Ретельно перемішайте протягом 10 сек. Дуже важливо, досягнути повного перемішування на даному етапі.
- Інкубуйте протягом **60 хвилин** при кімнатній температурі (не накриваючи планшет).
- Різько витрусіть вміст лунок.  
Промийте лунки 3 рази розведеним Промивним Розчином (**400 мкл** на лунку). Різько струсіть планшетку над абсорбуючим папером, щоб видалити залишки крапель.  
**Важлива примітка:**  
Чутливість і точність аналізу залежить від правильного виконання процедури промивання!
- Додайте **200 мкл Розчину Субстрату** у кожну лунку.
- Інкубуйте протягом **15 хвилин** при кімнатній температурі.
- Зупиніть ферментну реакцію, додавши **100 мкл Стоп Розчину** у кожну лунку.
- Визначіть оптичну щільність (ОЩ) кожної лунки при **450 нм ± 10 нм** протягом **10 хвилин** після додавання **Стоп Розчину**.

### 6.3 Обчислення результатів

- Обчисліть середню абсорбцію для кожного набору стандартів, контролів і зразків пацієнта.
- Побудуйте стандартну криву, відкладаючи середню абсорбцію отриману з кожного стандарту напроти його концентрації зі значенням абсорбції на вертикальній осі Y і концентрації на горизонтальній осі X.
- Використовуючи значення середньої абсорбції для кожного зразка, визначіть відповідну концентрацію зі стандартної кривої.
- Автоматичний метод: результати у IFU були обчислені автоматично за допомогою кубічного спліну 4 PL. 4PL є кращим методом. Інші функції обробки даних можуть дати дещо інші результати.
- Концентрацію зразків можна зчитати зі стандартної кривої. Зразки з концентраціями вище, ніж концентрація найвищого стандарту необхідно розвести або повідомити як >16 Інг/мл. При обчисленнях концентрацій, цей фактор слід врахувати.

#### 6.3.1 Приклад типової стандартної кривої

Наступні дані призначені тільки для демонстрації і не повинні використовуватися замість даних під час аналізу.

Стандарт	Оптичні одиниці (450 нм)
Стандарт 0 (0 нг/мл)	2.1
Стандарт 1 (0.2 нг/мл)	1.71
Стандарт 2 (0.5 нг/мл)	1.44
Стандарт 3 (1 нг/мл)	1.18
Стандарт 4 (2 нг/мл)	0.89
Стандарт 5 (6 нг/мл)	0.46
Стандарт 6 (16 нг/мл)	0.24

## 7. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ- НОРМА

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія встановила власні значення норми або патології.

При дослідженні очевидно нормальних здорових дорослих, за допомогою даного набору, були отримані наступні дані:

Популяція	Процентиль 5%	Процентиль 95%
Чоловіки	2.0 нг/мл	6.9 нг/мл
Жінки	0.26 нг/мл	1.22 нг/мл

Самі по собі результати не можуть бути основою для будь-яких терапевтичних висновків. Результати повинні корелювати з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

## 8. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Добра лабораторна практика вимагає, щоб контролю запускали з кожною калібрувальною кривою. Статистично значну кількість контролів потрібно проаналізувати, щоб визначити середнє значення та допустимі діапазони для забезпечення належної продуктивності.

Рекомендується використовувати зразки контролів відповідно до державних та федеральних умов. Рекомендується використовувати контрольні зразки, щоб забезпечити щоденну достовірність результатів.

Використовуйте контролі як на нормальному так і на патологічному рівнях.

Контролі та відповідні результати лабораторії QC зазначені у сертифікаті QC, який постачається з набором. Значення та діапазони, які вказані у паспорті QC завжди відповідають лоту набору і повинні використовуватися для прямого порівняння результатів.

Також рекомендується використовувати національні та міжнародні програми оцінки якості для підтвердження достовірності результатів.

Використовуйте відповідний статистичний метод для аналізу значень та тенденції контролю. Якщо результати аналізу не відповідають встановленим допустимим діапазонам контрольних матеріалів, результати вважаються не дійсними.

В такому випадку, слід перевірити наступні дані: пристрої піпетування та синхронізації; фотометр; термін придатності реагентів, умови зберігання та інкубації, методи аспірації та промивання.

Якщо не виявили причину помилки, зверніться до вашого постачальника, або безпосередньо до DRG.

## 9. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 9.1 Динамічний діапазон аналізу

Діапазон аналізу знаходиться між 0-16 нг/мл.

### 9.2 Специфічність антитіл (перехресна реактивність)

Наступні речовини були протестовані на перехресну реактивність аналізу:

Аналіт	Перехресна реактивність
Тестостерон	100.0
5 $\alpha$ -Дегідротестостерон	0.8
Андростендіон	0.9
11 $\beta$ -Гідроксиестестостерон	3.3
17 $\alpha$ -Метилтестостерон	0.1
19-Нортестостерон	3.3
Епітестостерон	<0.1
Оестрадіол	<0.1
Прогестерон	<0.1
Кортизол	<0.1
Оестрон	<0.1
Даназол	<0.1

### 9.3 Чутливість

Аналітичну чутливість набору обчислили шляхом віднімання двох стандартних відхилень від середнього значення 20 повторів аналізу 0 стандарту (S0) і вона становить 0,083 нг/мл.

### 9.4 Відтворюваність

#### 9.4.1 Варіація в середині аналізу

Зразок	К-сть	Середнє (нг/мл)	КВ %
1	20	0.73	4.16
2	20	4.88	3.28
3	20	11.26	3.34

#### 9.4.2 Варіація між аналізами

Зразок	К-сть	Середнє (нг/мл)	КВ %
1	20	0.82	9.94
2	20	5.20	6.71
3	20	11.38	4.73

### 9.5 Відновлення

Зразки були розбавлені додаванням розчинів тестостерону при відомих концентраціях у співвідношенні 1:1.

Очікувані значення були обчислені додаванням половини значень, визначених для нерозведених зразків і половини значень для відомих розчинів. % відновлення обчислили шляхом множення співвідношень вимірювань та очікуваних значень на 100.

Зразок	Додана конц. 1:1 (v/v) (нг/мл)	Виміряна конц. (нг/мл)	Очікувана конц. (нг/мл)	Відновлення (%)
1	0.0	1.10		
	16.0	9.31	8.55	109.0
	6.0	3.93	3.55	110.7
	2.0	1.67	1.55	107.9
	1.0	0.91	1.05	86.9
2	0.0	6.07		
	16.0	11.81	11.03	107.1
	6.0	6.65	6.03	110.1
	2.0	3.73	4.03	92.5
	1.0	3.26	3.53	92.2
3	0.0	11.62		
	16.0	14.76	13.63	108.3
	6.0	9.33	8.63	108.1
	2.0	7.29	6.63	110.0
	1.0	6.75	6.13	110.1

### 9.6 Лінійність

Зразок	Розведення	Виміряна конц. (нг/мл)	Очікувана конц. (нг/мл)	Відновлення (%)
1	Нема	1.10	1.10	
	1:2	0.51	0.55	93.8
	1:4	0.24	0.27	86.1
	1:8	0.15	0.14	106.6
2	Нема	6.07	6.07	
	1:2	3.36	3.03	110.6
	1:4	1.66	1.52	109.2
	1:8	0.68	0.76	89.0
	1:16	0.37	0.38	97.0
3	Нема	11.26	11.26	
	1:2	5.76	5.63	102.4
	1:4	2.76	2.81	97.9
	1:8	1.55	1.41	110.0
	1:16	0.77	0.70	109.5

## 10. ОБМЕЖЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Надійні та відтворювані результати можна отримати, якщо процедура аналізу проведена з повним розумінням інструкції та згідно з правилами доброї лабораторної практики. Будь-яка неправильна обробка зразків або модифікація цього тесту може вплинути на результати.

### 10.1 Інтерферуючі речовини

Гемоглобін (до 4 мг/мл), білірубін (до 0.25 мг/мл) та тригліцериди (до 7.5 мг/мл) не впливають на результати аналізу.

### 10.2 Вплив лікарських засобів

На сьогоднішній день, не відомі речовини (лікарство), яке впливає на результати аналізу.

### 10.3 Хук-ефект високої дози

Хук-ефект не спостерігався в цьому тесті.

## 11. ПРАВОВІ АСПЕКТИ

### 11.1 Достовірність результатів

Тест потрібно проводити відповідно до інструкції виробника. Крім того, користувач повинен чітко дотримуватися правил професійної лабораторної практики або інших відповідних національних стандартів і/або законів. Це особливо стосується контрольних реагентів. В процесі проведення аналізу, важливо включати достатню кількість контролів для оцінки точності аналізу. Результати тесту є дійсними тільки тоді, коли всі контролі знаходяться в межах допустимих діапазонів, а також коли параметри тесту відповідають даним характеристикам аналізу. У випадку сумнівів зверніться до DRG.

### 11.2 Терапевтичні висновки

Терапевтичні висновки не повинні базуватися тільки на результатах лабораторних досліджень, навіть якщо вони вважаються достовірними відповідно до п. 11.1. Будь-який результат лабораторії є тільки частиною загальної клінічної картини пацієнта.

Тільки у випадках, коли лабораторні результати співпадають з нормами і загальною картиною пацієнта, можна дробити терапевтичні висновки.

Тільки результати цього тесту не можуть бути основою для терапевтичних висновків.

### 11.3 Відповідальність

Будь-яка зміна набору і /або заміна або змішування його компонентів різних лотів з одного набору до іншого може негативно вплинути на результати і на увесь тест. Така модифікація і/або заміна не є підставою для прохання про заміну набору.

Претензії, подані внаслідок неправильного тлумачення результатів лабораторних досліджень згідно з пунктом 11.2. також є недійсними. Незалежно від того, у випадку будь-якої претензії, відповідальність виробника не повинна перевищувати вартість тестового набору. Будь-який збиток, нанесений тестовому набору під час транспортування, не підлягає відповідальності виробника.



#### **ВИРОБНИК**

DRG Інструментс ГмбХ  
вул. Фраунберг 18, 35039  
м. Марбург, Німеччина  
Тел: +49(0)64 21/170 00  
Факс: +49(0)64 21/17 00 50  
[www.drq-diagnostics.de](http://www.drq-diagnostics.de)  
e-mail: [drq@drq-diagnostics.de](mailto:drq@drq-diagnostics.de)



#### **УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК**

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

