

AA E-1000 Андростендион, набор реагентов для ИФА

Набор реагентов для иммуноферментного анализа для прямого количественного определения Андростендиона в сыворотке человека.

Этот тест предназначен только для in-vitro диагностики.

1. Дополнительные необходимые материалы и оборудование, не входящие в комплект:

- прецизионные микропипетки с одноразовыми наконечниками на 25, 50, 100, 150 и 300 мкл
- дистиллированная или деионизированная вода
- микропланшетный шейкер
- Микропланшетный анализатор с фильтром, установленным на длине 450 нм и пределом ОП 3.0 или больше

2. Компоненты набора.

AA E-1031 Разборный микропланшет, покрытый кроличьими анти-Андростендион антителами.

Готов к использованию

Содержит: Один 96 луночный (12x8) микропланшет с поликлональными антителами в закрывающемся пакете с осушителем.

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

AA E-1040 Концентрированный конъюгат Андростендион-HRP – x50

Содержит: конъюгат Андростендион-HRP в буферном растворе с консервантом не содержащем ртуть.

Объём: 300мкл/флаконе

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

Способ приготовления: развести 1:50 с буфером для анализа перед использованием (например, 40 мкл концентрата в 2 мл буфера). Если будет использоваться весь планшет то нужно развести 240 мкл концентрата в 12 мл буферного раствора для анализа. Не использовать, что осталось.

Калибраторы

Содержит: шесть флаконов содержащих сыворотку с Андростендионом в основном буфере с консервантом не содержащем ртуть. Содержат заданные концентрации Андростендион в буферном растворе.

Ниже приведены примерные концентрации, пожалуйста, обратитесь к этикетке на флаконе для точной концентрации:

Кат.номер	Калибратор	Концентрация	Объём
AA E-1001	Калибратор А	0 нг/мл	2,0 мл
AA E-1002	Калибратор В	0.1 нг/мл	0,5 мл
AA E-1003	Калибратор С	0.3 нг/мл	0,5 мл
AA E-1004	Калибратор D	1 нг/мл	0,5 мл
AA E-1005	Калибратор E	3 нг/мл	0,5 мл
AA E-1005	Калибратор F	10 нг/мл	0,5 мл

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке. Открытые стандарты или аликвоты должны быть использованы в течении 14 дней или заморожены. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания.

AA E-1051 Контроль 1 – Готов к использованию

AA E-1052 Контроль 2 – Готов к использованию

Содержит: два флакона, содержащие сыворотку с Андростендионом в основном буфере с консервантом не содержащем ртуть. Содержат сыворотку с заданной концентрацией Андростендиона. Диапазон ожидаемого значения указан на этикетке флакона.

Объём: 0,5 мл/флаконе

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке. Открытые стандарты или аликвоты должны быть использованы в течении 14 дней или заморожены. Избегайте повторный циклов замораживания/оттаивания.

AA E-0030 Концентрат промывочного буфера – x10

Содержит: 1 бутыл с не ионным промывочным раствором и консервантом не содержащим ртуть.

Объём: 50 мл/бутыл

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

Способ приготовления: Перед использованием разведите дистиллированной или деионизированной водой 1:10. Если будет использован весь планшет, то разбавьте 50 промывочного буфера с 450 мл воды.

AA E-1013 Буфер для анализа – Готов к использованию

Содержит: 1 флакон, содержащий основной белковый буферный раствор с консервантом не содержащим ртуть.

Объём: 15 мл/флаконе

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

AA E-0055 ТМБ-субстрат – Готов к использованию

Содержит: Один флакон, содержащий тетраметилбензидин и перекись водорода в не- DMF или DMSO содержащем буфере.

Объём: 16 мл/флаконе

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

AA E-0080 Стоп-раствор

Содержит: 1 флакон, содержащий 1 М серной кислоты.

Объём: 6 мл/флаконе

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

Процедура анализа

Перед использованием все реагенты должны достичь комнатной температуры. Стандарты, контроли и образцы проб должны быть исследованы в дублях. Как только процедура начата, все этапы должны быть завершены без перерыва.

1. Приготовьте рабочие растворы Андростендион-HRP конъюгата и промывочного буфера.
2. Извлеките необходимое количество стрипов. Неиспользованные поместите обратно в упаковку, герметично закупорьте и поместите в холодильник.
3. Добавьте 25 мкл каждого стандарта, контроля и образца сыворотки в соответствующие лунки в дублях.
4. Добавьте 100 мкл рабочего раствора Андростендион-HRP конъюгата в каждую лунку
5. Инкубируйте в шейкере при 200 об./мин. в течение 1 часа при комнатной температуре.
6. Промойте каждую лунку по 3 раза: внося по 300 мкл раствора промывочного буфера, удаляя остатки влаги абсорбирующей бумагой (мы рекомендуем использовать вошер).
7. Добавьте 150 мкл ТМБ-субстрата в каждую лунку через заданные интервалы времени.
8. Инкубируйте в шейкере в течение 15-120 минут при комнатной температуре (или до того момента, когда Стандарт А приобретет темно-синий цвет, достигнет желаемой ОП)
9. Добавьте 50 мкл Стоп-раствора в каждую лунку через те же интервалы, что и в этапе 7
10. Считайте результат на микропланшетном анализаторе при 450 нм в течение 20 минут после добавления Стоп-раствора. (Если ОП превышает верхний предел обнаружения или фильтр 450 нм недоступен, то можно заменить на фильтр 405 или 415nm. Оптические плотности будут ниже, однако, это не повлияет на результаты пациентов/контрольные пробы.)

Расчет результатов

1. рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого стандарта в дублях

2. Нарисуйте калибровочную кривую на логарифмической бумаге со средней оптической плотности на Y-оси и концентрацией калибратора на X-оси. Если для анализа используется программное обеспечение, то рекомендуется кривая на 4-параметра.
3. рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого неизвестного в дублях.
4. Рассчитайте значение неизвестных при помощи калибровочной кривой.
5. Если образец получается более 10 нг/мл, то разведите его Калибратором А в соотношении не более 1:8. Полученный результат следует умножить на фактор разведения.

Типичная таблица (не используйте для расчета)

Калибратор	Средняя ОП	Концентрация (нг/мл)
A	2.443	0
B	1.746	0.1
C	1.195	0.3
D	0.721	1
E	0.385	3
F	0.184	10
Неизвестная	0.482	2.1

Типичная калибровочная кривая (не используйте для расчета)
см. оригинал инструкции.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ: 0,04 нг / мл.

ОЖИДАЕМЫЕ НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Это касается всех клинических анализов, каждая лаборатория должна собирать данные и создавать свои собственные диапазоны ожидаемых нормальных значений.

Группа	N	Среднее значение (нг/мл)	Диапазон (нг/мл)
Женщины	20	1.4	0.3-2.4
Мужчины	20	2.0	0.4-3.5