

## AA E-1300 Тестостерон

Набор реагентов для ИФА для прямого количественного определения тестостерона в сыворотке человека.

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.

Набор содержит достаточное количество реагентов для проведения 96 количественных определений.

**AA E-1331 Разборный микропланшет, покрытый кроличьими анти-тестостерон антителами.**

Готов к использованию.

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

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

**AA E-1340 Концентрированный конъюгат Тестостерон-HRP – x50**

Содержит: конъюгат Тестостерон-HRP в белковом основном буферном растворе с консервантом не содержащем ртуть.

Объём: 300 мкл/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.

**Стандарты – Готовы к использованию.**

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

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

Кат.номер	Стандарты	Концентрация	Объём/флаконе
AA E-1301	Стандарт А	0 нг/мл	1,0 мл
AA E-1302	Стандарт В	0,08 нг/мл	0,5 мл
AA E-1303	Стандарт С	0,42 нг/мл	0,5 мл
AA E-1304	Стандарт D	1,67 нг/мл	0,5 мл
AA E-1305	Стандарт Е	5,0 нг/мл	0,5 мл
AA E-1306	Стандарт F	16,7 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 повторный циклов замораживания/оттаивания.

**AA E-1351 Контроль – Готов к использованию.**

один флакон, содержащий сыворотку с тестостероном в основном белковом буфере с консервантом не содержащем ртуть. Содержит сыворотку с заданной концентрацией тестостерона. Диапазон ожидаемого значения указан на этикетке флакона.

Объем: 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.

Объем: 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-1313 Буфер для анализа – Готов к использованию**

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

Объем: 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.

Объем: 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.

Объем: 6 мл/флаконе

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

**3. 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 HRP конъюгата и промывочного буфера.
2. Извлеките необходимое количество стрипов. Неиспользованные поместите обратно в упаковку, герметично закупорьте и поместите в холодильник.
3. Добавьте 50 мкл каждого стандарта, контроля и исследуемые образцы сыворотки в соответствующие лунки в дублях.
4. Добавьте 100 мкл рабочего раствора 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 при 200 об./мин. при комнатной температуре 10-15 минут (или до того момента, когда Стандарт А приобретет темно-синий цвет, достигнув 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.)

#### 4. Расчет результатов

1. рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора в дублях
2. рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого неизвестного в дублях.
3. Вычтите среднее значение абсорбции "0" калибратора из средних значений оптической плотности остальных калибраторов, контроля и образцов сыворотки.
4. 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.
5. Рассчитайте значение неизвестных при помощи калибровочной кривой.
6. Если образец получается более 20 нг/мл, то разведите его Калибратором А в соотношении не более 1:8. Полученный результат следует умножить на фактор разведения.

#### 5. Типичная таблица данных (не используйте для расчета)

Стандарт	ОП 1	ОП 2	Средняя ОП	Концентрация (нг/мл)
A	2.391	2.357	2.374	0
B	2.069	1.942	2.006	0.1
C	1.533	1.578	1.556	0.5
D	0.984	1.039	1.012	2
E	0.606	0.575	0.591	6
F	0.290	0.293	0.292	20
Неизвестная	1.266	1.238	1.252	1.1

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

Чувствительность: 0,022 нг/мл

Ожидаемые нормальные значения:

Это же касается всех клинических анализов, каждая лаборатория должна собирать данные и создавать свои собственные диапазоны ожидаемых нормальных значений. Были получены следующие результаты ожидаемых значений при исследовании явно нормальных здоровых людей (все значения приведены в пг / мл):

Группа	N	Среднее значение (нг/мл)	Центральный диапазон (95%) (нг/мл)
Препубертатный возраст	10	0.12	0.05-0.25
Половое созревание и взрослые мужчины	40	4.7	3.0-12.0
Женщины	40	0.5	0.2-1.0