

AA E-1600 ДГЭА

Набор реагентов для ИФА для прямого количественного определения дегидроэпиандростерона 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.

AA E-1631 Разборный микропланшет, покрытый кроличьими анти-ДГЭА 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-1640 Концентрированный конъюгат ДГЭА-HRP – x100

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

Объем: 0,3 мл/флаконе

Хранение: 2-8°C

Стабильность: 12 месяцев или как указано на этикетке

Способ приготовления: развести 1:100 с буфером для анализа перед использованием (например, 20 мкл концентрата в 2 мл буфера). Если будет использоваться весь планшет то нужно развести 0,2 мл концентрата в 20 мл буферного раствора для анализа. Не использовать, что осталось.

Калибраторы

Готовы к использованию.

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

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

Кат.номер	Калибратор	Концентрация	Объем
AA E-1601	Стандарт А	0 нг/мл	2,0 мл
AA E-1602	Стандарт В	0.2 нг/мл	0,6 мл
AA E-1603	Стандарт С	0.5 нг/мл	0,6 мл
AA E-1604	Стандарт D	4 нг/мл	0,6 мл
AA E-1605	Стандарт E	10 нг/мл	0,6 мл
AA E-1606	Стандарт F	40 нг/мл	0,6 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-1651 Контроль 1 – Готов к использованию

AA E-1652 Контроль 2 – Готов к использованию

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

Объем: 0,6 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-1613 Буфер для анализа – Готов к использованию

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

Объём: 25 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 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 образца сыворотки в соответствующие лунки в дублях.
4. Добавьте 150 мкл рабочего раствора HRP конъюгата в каждую лунку
5. Осторожно встряхивайте планшет в течение 10 секунд.
6. Инкубируйте в течении 1 часа при комнатной температуре.
7. Промойте каждую лунку по 3 раза: внося по 300 мкл раствора промывочного буфера, удаляя остатки влаги абсорбирующей бумагой (мы рекомендуем использовать вошер).
8. Добавьте 150 мкл ТМБ-субстрата в каждую лунку через заданные интервалы времени
9. Инкубируйте при комнатной температуре 10-15 минут (или до того момента, когда Стандарт А приобретет темно-синий цвет, достигнет желаемой ОП)
10. Добавьте 50 мкл Стоп-раствора в каждую лунку через те же интервалы, что и в этапе 8
11. 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 40 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)

Стандарт	ОП 1	ОП 2	Средняя ОП	Концентрация (нг/мл)
A	2.193	2.189	2.191	0
B	1.984	2.001	1.993	0.2
C	1.806	1.814	1.810	0.5
D	0.864	0.911	0.888	4
E	0.543	0.526	0.535	10
F	0.273	0.245	0.259	40
Неизвестная	0.398	0.368	0.383	20

Типичная калибровочная кривая (не используйте для расчета)

см. оригинал инструкции.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ: 0,082 нг / мл

ОЖИДАЕМЫЕ НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

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

Группа	Диапазон (нг/мл)
Мужчины	1-12
Женщины	3-11