

## MS E-5000 Кортизол

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 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.

### MS E-5031 Разборный микропланшет, покрытый кроличьими анти-кортизол 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

### MS E-5040 Концентрированный конъюгат Кортизол-HRP – x50

Содержит: конъюгат Кортизол-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: семь флаконов содержащих сыворотку с Кортизолом в основном белковом буфере с консервантом не содержащем ртуть. Содержат заданные концентрации кортизола в буферном растворе.

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

Кат.номер	Стандарты	Концентрация	Объём/флаконе
MS E-5001	Стандарт А	0 мкг/дл	1,0 мл
MS E-5002	Стандарт В	0,5 мкг/дл	0,3 мл
MS E-5003	Стандарт С	2 мкг/дл	0,3 мл
MS E-5004	Стандарт D	5 мкг/дл	0,3 мл
MS E-5005	Стандарт E	10 мкг/дл	0,3 мл
MS E-5006	Стандарт F	30 мкг/дл	0,3 мл
MS E-5007	Стандарт G	60 мкг/дл	0,3 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.

### MS E-5051 Контроль – Готов к использованию.

один флакон, содержащий сыворотку с кортизолом в основном белковом буфере с консервантом не содержащем ртуть. Содержит сыворотку с заданной концентрацией кортизола. 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.

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.

#### **MS E-5013 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 20 мкл каждого стандарта, контроля и исследуемые образцы сыворотки в соответствующие лунки в дублях.
4. Добавьте 100 мкл рабочего раствора HRP конъюгата в каждую лунку (мы рекомендуем использовать многоканальную пипетку)
5. Инкубируйте в шейкере при 200 об./мин. в 45 минут при комнатной температуре.
6. Промойте каждую лунку по 3 раза: внося по 300 мкл раствора промывочного буфера, удаляя остатки влаги абсорбирующей бумагой до сухого пятна (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. Вычитите 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 100 нг / мл, то разведите его Калибратором А в соотношении не более 1:8. Полученный результат следует умножить на фактор разведения.

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

Чувствительность: 0,4 мкг / дл.

Ожидаемые нормальные значения:

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

Группа	Среднее значение (мкг/дл)	Центральный диапазон (95%) (мкг/дл)
Мужчины и женщины в первой половине дня (AM)	15,59	3.95-27.23
Мужчины и женщины во второй половине дня (PM)	5,93	1.45-10.41