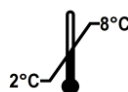


ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

ДГЕА – сульфат ІФА



REF AA E- 1100



IVD

ВСТУП

Використання за призначенням

ІФА ДГЕА-С для прямого кількісного діагностичного вимірювання *in vitro* дегідроепіандростерону сульфату (ДГЕА-С) у сироватці крові людини.

ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Принцип наступного імуноферментного аналізу відповідає типовому сценарію конкурентного зв'язування. Конкуренція відбувається між неміченим антигеном (присутнім у стандартах, контролях та зразках пацієнта) та міченим ферментом антигеном (кон'югат) для обмеженої кількості місць зв'язування антитіл на мікропланшеті. Процедури миття та декантації видаляють незв'язані матеріали. Після етапу промивання ферментний субстрат додається. Ферментативна реакція припиняється додаванням стоп-розчину. Вимірюється поглинання на рідері мікропланшетів. Інтенсивність утвореного кольору обернено пропорційна концентрації ДГЕА-С у вибірці. Набір стандартів використовується для побудови стандартної кривої, з якої кількість ДГЕА-С в зразках та контролях пацієнтів можна прочитати безпосередньо.

КЛІНІЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ

Дегідроепіандростерон – сульфат (ДГЕА*С) виробляється наднирниками і статевими залозами. В результаті цього визначення рівень ДГЕА-С у сироватці крові є важливим при оцінці функціонального стану цих залоз. ДГЕА-С - попередник тестостерону та естрогену. Крім надниркових залоз у жінок, яєчники виявилися важливим джерелом ДГЕА-С. Повідомлялося, що коливання є день у день ДГЕА-С у жінок під час овуляторного циклу. Принцип вироблення тестостерону у жінок полягає в перетворенні інших споріднених андрогенів, особливо ДГЕА-С. Аномальний рівень тестостерону у жінок повинен супроводжуватися оцінкою сироваткової ДГЕА-С. Використання визначення тестостерону в сироватці крові спільно з ІФА ДГЕА-С може бути використане для визначення того, чи є джерелом надлишкової продукції андрогенів яєчник або наднирники.

ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Користувачі повинні глибоко розуміти цей протокол для успішного використання цього набору. Надійне виконання буде досягнуто лише суворим і ретельним дотриманням наданих інструкцій.
2. Контрольні матеріали або сироваткові басейни повинні бути включені в кожен прогон на високому та низькому рівні для оцінки рівня достовірності результатів.
3. Коли використання води визначене для розведення чи відновлення, використовуйте дейонізовану або дистильовану воду.
4. Щоб зменшити вплив потенційно шкідливих речовин, під час поводження з реагентами набору та людськими зразками слід носити рукавички.
5. Усі реагенти та зразки набору потрібно довести до кімнатної температури і обережно, але ретельно перемішати перед використанням. Уникайте повторного заморожування та відтавання реагентів та зразків.
6. Для кожного прогону необхідно встановити стандартну криву.
7. Контролі повинні включатися в кожен пробіг і входити в встановлені межі довіри.
8. Неправильні процедурні прийоми, неточне піпетування, неповне промивання, а також неправильне зберігання реагентів може бути вказано, коли значення аналізу для контролів не відображають встановлені діапазони.
9. Під час читання мікропланшета наявність бульбашок у лунках впливатиме на оптичну густину (ОГ). Перед виконанням кроку читання обережно видаліть бульбашки.
10. Розчин субстрату (ТМБ) чутливий до світла і при належному зберіганні повинен залишатися безбарвним. На нестабільність чи забруднення може вказувати розвиток синього кольору, в такому випадку він повинен не використовуватися.
11. Під час дозування субстрату та стоп-розчину не використовуйте піпетки, в яких ці рідини будуть контактувати з будь-якими металевими деталями.
12. Щоб запобігти забрудненню реагентів, використовуйте новий одноразовий наконечник піпетки для дозування кожного реагенту, зразку, стандарту і контролю.
13. Не змішуйте різні кількості партій компонентів набору в межах тесту і не використовуйте жодних компонентів за межами терміну придатності, надрукованому на етикетці.
14. Набір реагентів слід розглядати як небезпечний відхід та утилізувати відповідно до національних норм.

ОБМЕЖЕННЯ

1. Всі реагенти в наборі калібруються для прямого визначення ДГЕА-С в сироватці людини. Набір не калібрується для визначення ДНЕА-С в слині, плазмі чи інших зразках людини або тваринного походження.
2. Не використовуйте сильно гемолізовану, грубо ліпемічну, жовтяничну або неправильно збережену сироватку.
3. Будь-які зразки або контрольні сироватки, що містять азид або тимеросал, не сумісні з цим набором, тому що можливо призводять до помилкових результатів.
4. Для розведення будь-яких зразків із високою сироваткою крові може використовуватися лише стандарт А. Застосування будь-якого іншого реагенту може призвести до помилкових результатів.
5. Результати, отримані за допомогою цього набору, ніколи не повинні використовуватися як єдина основа для клінічного діагнозу. Наприклад, виникнення гетерофільних антитіл у пацієнтів, які регулярно піддаються впливу тварин чи продуктів тваринного походження можуть викликати втручання в імунологічних тестах. Отже, клінічний діагноз повинен включати всі аспекти стану пацієнта, включаючи частоту впливу тварин / продуктів тваринного походження при підозрі на помилкові результати.

ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ ПОТЕНЦІАЛЬНИЙ БІОЛОГІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИЙ МАТЕРІАЛ

Сироватка людини, яка може бути використана при підготовці стандартів та контролю, була протестована та виявлена як така, що не реагує на поверхневий антиген гепатиту В, а також перевіряється на наявність антитіл до HCV та вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ), який виявився негативним. Проте жоден метод тестування не може запропонувати повну впевненість у відсутності ВІЛ, ВГС та вірусу гепатиту В або будь-яких інфекційних агентів. Реагенти слід вважати потенційною біологічною небезпекою і поводитися з тими ж запобіжними умовами, що і з будь-яким зразком крові.

ХІМІЧНІ НЕБЕЗПЕКИ

Уникайте контакту з реагентами, що містять ТМБ, перекис водню та сірчану кислоту. При контакті з будь-яким із цих реагентів, промити великою кількістю води. ТМБ є підозрюваним канцерогеном.

ЗАБІР ЗРАЗКІВ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Приблизно 0,1 мл сироватки потрібно на кожне повторне визначення. Зберіть 4–5 мл крові в відповідно помічену пробірку і дайте їй згорнутися. Відцентруйте і обережно зніміть шар сироватки. Зберігати при 4 ° С протягом 24 годин або при -10 ° С або нижче, якщо аналізи потрібно робити пізніше. Розглядайте всі людські зразки, як можливі біологічно небезпечні матеріали, та вживайте відповідних запобіжних заходів при поводженні.

ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Цей аналіз є прямою системою; не потрібно проводити попередню обробку зразка.

РЕАГЕНТИ ТА ОБЛАДНАННЯ НЕОБХІДНІ, але НЕ НАДАНІ

1. Точні піпетки для дозування 25, 50, 150, 200 і 300 мкл
2. Одноразові наконечники піпетки
3. Дистильована або дейонізована вода
4. Шейкер для мікропланшетів.
5. Рідер мікропланшетів із встановленим фільтром на 450 нм та верхньою межею ОГ 3,0 або більше * (див. крок 10 процедури аналізу)

Реагенти надані

1. AA E-0030 WASH CONC

Буферний концентрат для промивання - вимагає підготовки X10

Зміст: Одна пляшка, що містить буфер з неіонним миючим засобом і консерватором без ртуті.

Об'єм: 50 мл / флакон

Зберігання: охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Приготування: перед використанням розвести 1:10 у дистильованій або дейонізованій воді. Якщо весь планшет потрібно використовувати розбавлений 50 мл концентрат промивного буфера в 450 мл води.

2. AA E-0055 SUBSTRATE ТМБ субстрат - готовий до використання.

Зміст: Одна пляшка, що містить тетраметилбензидин та перекис водню в буфері, що не містить DMF або DMSO.

Об'єм: 16 мл / флакон

Зберігання: охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

3. AA E-0080 СТОП-розчин - готовий до використання.

Зміст: Один флакон, що містить 1М сірчаної кислоти.

Об'єм: 6 мл / флакон

Зберігання: охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Небезпеки



ідентифікація:

H290 Може бути корозійним для металів.

H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей.

4. Стандарти і контролі – готові для використання

Нижче наведено орієнтовні концентрації, будь ласка, зверніться до етикеток на флаконах для точної концентрації

Кат. №	Позначення	Стандарт	Концентрація	Обсяг /флакон
AA E 1101	Стандарт А	Стандарт А(0)	0 мкг/мл	2,0 мл
AA E 1102	Стандарт В	Стандарт В(1)	0,005 мкг/мл	0,5 мл
AA E 1103	Стандарт С	Стандарт С(2)	0,02 мкг/мл	0,5 мл
AA E 1104	Стандарт D	Стандарт D(3)	0,1 мкг/мл	0,5 мл
AA E 1105	Стандарт Е	Стандарт Е(4)	0,5 мкг/мл	0,5 мл
AA E 1106	Стандарт F	Стандарт F(5)	2,5 мкг/мл	0,5 мл
AA E 1107	Стандарт G	Стандарт G(6)	10 мкг/мл	0,5 мл
AA E 1151	Контроль 1	Control 1	Звернутись до етикеток на флаконах цінність та прийнятний діапазон!	
AA E 1152	Контроль 2	Control 2		

Вміст: ДГЕА-С в буфері на основі білка з консерватором без ртуті. Готують за допомогою збагаченого буфера з визначеною кількістю ДГЕА-С.

Зберігання: охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців у відкритих флаконах або як зазначено на етикетці. Після відкриття стандартів і контролів слід використовувати протягом 14 днів або зберігати в аликвотах і зберігати замороженими.

Уникайте кратних циклів заморожування та відтавання.

5. Буфер зразків ASSAY-BUFF AA E-1113 - готовий до використання.

Зміст: Один флакон, що містить буфер на основі білка з консерватором без ртуті.

Об'єм: 30 мл / флакон

Зберігання: охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

6. AA E-1131

мікропланшет розбірний лубочний кролячими анти - ДГЕА-С – антитілами покритий
Готовий до використання.

Зміст: Один мікропланшет, покритий поліклональним антитілом 96 лунок (12x8) у пакетику, що закривається, з осушувачем.

Зберігання: охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

7. Кон'югат пероксидази хрому AA-1140 DHEAS (HRP) концентрат - вимагає підготовки X50

Зміст: кон'югат ДГЕА-С-HRP у буфері на основі білка з консерватором без ртуті.

Об'єм: 0,8 мл / флакон

Зберігання: охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Приготування: перед використанням розвести 1:50 в буфері для аналізу (наприклад, 40 мкл HRP в 2 мл буфера для аналізу). Якщо цілий планшет, слід використовувати розведений 0,5 мл HRP у 25 мл буфера для аналізу.

Видаліть, що залишилося.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Попередня обробка зразка: Немає.

Всі реагенти повинні досягати кімнатної температури перед використанням. Стандарти, контрольні та зразки повинні бути аналізовані у двох примірниках. Після запуску процедури всі кроки повинні бути завершені без перерви.

1. Підготуйте робочі розчини кон'югату ДГЕА-С-HRP та промивного буфера.

2. Видаліть необхідну кількість стріпів лунок. Повторно помістіть пакетик і поверніть всі невикористані стріпи в холодильник.

3. Піпетуйте по 25 мкл кожного стандарту, контролю та зразка у відповідно мічені лунки в дублікатах.

4. Піпетувати в кожну лунку по 200 мкл робочого розчину кон'югату.

(Ми рекомендуємо використовувати багатоканальну піпетку.)

5. Інкубуйте на шейкері для планшетів (приблизно 200 об / хв) протягом 45 хвилин при кімнатній температурі.

6. Промийте лунки 3 рази з 300 мкл розведеного промивного буфера на лунку і щільно постукайте планшетом об абсорбуючий папір для забезпечення його сухості. (Рекомендується використовувати вошер.)

7. Піпетуйте по 150 мкл субстрату ТМБ в кожну лунку з часовими інтервалами.

8. Інкубуйте на планшетному шейкері 15-20 хвилин при кімнатній температурі (або поки стандарт А не набуде темно-синього кольору для потрібної ОГ).

9. Піпетувати в кожну лунку по 50 мкл стоп розчину через ті ж часові інтервали, що і на етапі 7.

10. Прочитайте планшет на рідері мікропланшетів при 450 нм протягом 20 хвилин після додавання стоп розчину.

Якщо ОГ перевищує верхню межу виявлення або якщо фільтр 450 нм недоступний, фільтр 405 або 415 нм може бути заміщеним. Оптична густина буде нижчою, однак це не вплине на результати пацієнта/ контрольні зразки.

Розрахунок результатів

1. Обчисліть середню оптичну густина кожного стандарту дубліката.

2. Накресліть стандартну криву на напівлогарифмічному папері із середніми оптичними густинами на осі Y та концентрацією стандартів на осі X. Якщо використовується програмне забезпечення імуноаналіза, 4-параметр або 5-параметр крива рекомендується.

3. Обчисліть середню оптичну густина кожного невідомого дубліката.

4. Прочитайте значення невідомих безпосередньо від стандартної кривої.

5. Якщо зразок зчитується більше 10 мкг/ мл, його розводять зі стандартом А при розведенні не більше 1: 8.

Отриманий результат слід помножити на коефіцієнт розведення.

Версія 9.0, 2020-07-14

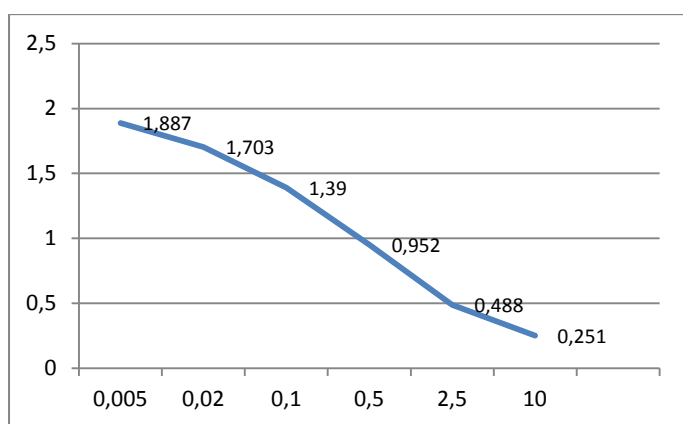
ТИПОВІ ТАБЛИЧНІ ДАНІ

Тільки вибіркові дані. Не використовуйте для обчислення результатів.

стандарт	ОГ1	ОГ2	Середня ОГ	Значення (мкг/мл)
A	2,106	2,060	2,083	0
B	1,910	1,863	1,887	0,005
C	1,636	1,769	1,703	0,02
D	1,398	1,382	1,390	0,1
E	0,966	0,938	0,952	0,5
F	0,496	0,479	0,488	2,5
G	0,250	0,252	0,251	10
невідомий	0,690	0,688	0,689	1,2

ТИПОВА СТАНДАРТНА КРИВА

Крива зразка. Не використовуйте для обчислення результатів.



ХАРАКТЕРИСТИКА ВИКОНАННЯ

ЧУТЛИВІСТЬ

Нижня межа виявлення обчислюється із стандартної кривої шляхом визначення результуючої концентрації середня ОГ стандарту А (на основі 10 повторних аналізів) мінус 2 СВ.

Тому чутливість набору прямих ДГЕА-С ІФА становить 0,005 мкг / мл.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ (ПЕРЕХРЕСНА РЕАКТИВНІСТЬ)

Наступні сполуки були випробувані на перехресну реакційну здатність із набором прямих ДГЕА-С ІФА з перехресною реакцією ДГЕА-С на 100%.

стероїд	% перехресної реактивності
ДГЕА-С	100
андростерон	16
андростендіон	1,7
тестостерон	0,9
прогестерон	0,6
дигідротестостерон	0,6
кортизол	0,5

Наступні стероїди були випробувані, але перехресно реагували на рівні менше 0,001%: 17 β -Естрадіол, Естрон, Естрон-Сульфат і прегненолон.

ТОЧНІСТЬ В АНАЛІЗІ

Три зразки аналізували по десять разів на одній стандартній кривій. Результати (у мкг / мл) відображаються у таблиці нижче:

зразок	середнє	СВ	CV%
1	0,24	0,02	7,5
2	2,02	0,18	8,9
3	9,54	0,11	11,5

ТОЧНІСТЬ МІЖ АНАЛІЗАМИ

Три зразки аналізували десять разів протягом чотирьох тижнів. Результати (у мкг / мл) наведені нижче

зразок	середнє	СВ	CV%
1	0,13	0,02	15,3
2	1,11	0,09	8,1
3	6,38	0,27	4,2

ВІДНОВЛЕННЯ

Збагачені зразки готували додаванням визначених кількостей ДГЕА-С до трьох зразків сироватки пацієнта. Результати (у мкг / мл) наведені нижче :

зразок	Спостерігаємий результат	Очікуваний результат	Відновлення %
1 незбагачений	0,67	-	-
+0,1	0,84	0,77	109,1
+1,0	1,97	1,67	118,0
+5,0	5,80	5,67	102,3
2 незбагачений	1,21	-	-
+0,1	1,41	1,31	107,6
+1,0	2,01	2,21	91,0
+5,0	4,95	6,21	79,7
3 незбагачений	1,72	-	-
+0,1	1,93	1,82	106,0
+1,0	2,65	2,72	97,4
+5,0	5,45	6,72	81,1

ЛІНІЙНІСТЬ

Три зразки сироватки пацієнтів були розведені зі стандартом А. Результати (у мкг / мл) відображаються у табличному вигляді

зразок	Спостерігаємий результат	Очікуваний результат	Відновлення %
1	2,88	-	-
1:2	1,74	1,44	120,8
1:4	0,88	0,72	122,2
1:6	0,43	0,36	119,4
2	6,32	-	-
1:2	3,17	3,16	100,3
1:4	1,63	1,58	103,2
1:6	0,78	0,79	98,7
3	7,12	-	-
1:2	3,09	3,56	86,8
1:4	1,78	1,78	86,5
1:6	0,80	0,89	89,9

ОЧІКОВАНІ НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ

Що стосується всіх клінічних аналізів, кожна лабораторія повинна збирати дані та встановлювати власний діапазон очікуваних нормальних значень.

група	Діапазон (мкг/мл)
чоловіки	0,39-4,63
жінки	0,46-2,75
Жінки в постменопаузі	0,48-2,08

ЛІТЕРАТУРА

1. Chasalow FI, Blethen SL, Bradlow HL. Dehydroepiandrosterone Sulfate (DHEAS) and DHEASlike Compounds in Fibrocystic Disease of the Breast. Steroids. 1988; 52(3):205–15.
2. Chasalow FI, et al. Serum Levels of Dehydroepiandrosterone Sulfate as Determined by Commercial Kits and Reagents. Steroids. 1989; 54(4):373–81.
3. de Peretti E, Forest MG. Pattern of Plasma Dehydroepiandrosterone Sulfate Levels in Humans from Birth to Adulthood: Evidence for Testicular Production. J Clin Endocrinol Metab. 1978; 47(3):572–77.
4. Holtzclaw WD, Gordon GB. Measurement of Serum Levels of Dehydroepiandrosterone Sulfate: A Comparison of Radioimmunoassay and Enzymatic Analysis. Steroids, 1989; 54(4): 355–71.
5. Koritnik DR, et al. A Radioimmunoassay for Dehydroepiandrosterone Sulfate in the Circulation of Rhesus Monkeys. Steroids. 1983; 42(6):653–67.
6. Orentreich N, et al. Age Changes and Sex Differences in Serum Dehydroepiandrosterone Sulfate Concentrations Throughout Adulthood. J Clin Endocrinol Metab. 1984; 59(3):551–55.
7. Smith MR, et al. A Radioimmunoassay for the Estimation of Serum Dehydroepiandrosterone Sulphate in Normal and Pathological Sera. Clin Chim Acta. 1975; 65(1): 5–13.
8. Check JH, et al. Falsely Elevated Steroidal Assay Levels Related to Heterophile Antibodies Against Various Animal Species. Gynecol Obstet Invest. 1995; 40(2):139–40.

Умовні позначення:

 +2/+8 °C Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо <N> випробувань
 Дата закінчення терміну придатності	LOT Код партії	IVD Тільки для діагностики в лабораторних умовах!
 Зверніться до інструкції з використання	CONT Зміст	CE Маркування