



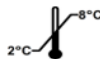
IMMUNOASSAYS AND SERVICES

BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY

LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co.KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

Інструкція з використання Андростандіол-глюкоронід ІФА

REF AA E-1500



IVD



Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@novamedline.com, www.novamedline.com

ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

Для прямого кількісного визначення 3 α -діолу G за допомогою імуноферментного аналізу в сироватці крові людини. Тільки для діагностики in vitro.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Принцип наступного імуноферментного аналізу відповідає типовому сценарію конкурентного зв'язування. Конкуренція відбувається між неміченим антигеном (присутній у стандартах, контролях та зразках пацієнтів) та міченим ферментом антигеном (кон'югат) за обмежену кількість місць зв'язування антитіл на мікропланшеті. Процедури миття та декантування видаляють незв'язані матеріали. Після етапу промивання додають ферментний субстрат. Ферментативна реакція припиняється додаванням зупиняючого розчину. Поглинання вимірюють на рідері мікропланшетів. Інтенсивність утвореного кольору обернено пропорційна концентрації 3 α -діолу G у зразку. Набір стандартів використовується для побудови стандартної кривої, з якої можна безпосередньо зчитувати кількість 3 α -Діолу G у зразках пацієнтів та контролів.

КЛІНІЧНІ ЗАСТОСУВАННЯ

5 α -Андростан-3 α , 17 β -діол глюкуронід є стероїдом C19 і скорочується як 3 α -Diol G, 5 α -Diol G або просто α -Diol G. Він виробляється головним чином як метаболіт тестостерону та дигідротестостерону (DHT). Він значною мірою виробляється в периферійних тканинах, таких як шкіра, особливо навколо волосяних фолікулів. Стимуляція великими кількостями 3 α -діолу G призводить до надмірного утворення волосся, особливо там, де волосся зазвичай немає у жінок. В останні роки інтерес до вимірювання цього стероїду зріс серед клінічних дослідників, які вивчали жінок, які страждають на ідіопатичний гірсутизм. Серед стероїдів, які, як відомо, є попередниками 3 α -Діолу G, є дегідроепіандростерон (DHEA), дегідроепіандростерон сульфат (DHEAS), дигідротестостерон (DHT), андростендіон та тестостерон. Показано, що лише 3 α -діол G збільшується при гірсутизмі та зменшується при лікуванні. Ця кореляція також була продемонстрована у пацієнтів із синдромом полікістозних яєчників (СПК). Таким чином, визначення 3 α -діолу G виявилось корисним показником у різних напрямках, включаючи моніторинг прогресу лікування ідіопатичного гірсутизму та жінок із СПК. Крім того, пацієнти з діабетом (як чоловіки, так і жінки), які отримували терапію циклоспорином А, показали підвищений рівень 3 α -діолу G, що є побічним ефектом, що призводить до появи волосся в областях, які були без волосся раніше.

ПРОЦЕДУРНІ ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Користувачі повинні добре розуміти цей протокол для успішного використання цього набору. Надійної роботи можна досягти лише при суворому і ретельному дотриманні наданих інструкцій.
2. Контрольні матеріали або сироваткові басейни повинні бути включені в кожен пробіг на високому та низькому рівні для оцінки надійності результатів.
3. Якщо використання води призначено для розведення або відновлення, використовуйте дейонізовану або дистильовану воду.
4. Щоб зменшити вплив потенційно шкідливих речовин, під час роботи з реагентами та людськими зразками слід носити рукавички.
5. Усі реактиви та зразки набору слід довести до кімнатної температури та обережно, але ретельно перемішати перед використанням. Уникайте повторного заморожування та розморожування реагентів та зразків.
6. Для кожного пробігу повинна бути встановлена стандартна крива.
7. Контролі повинні бути включені в кожен пробіг і відповідати встановленим межах довіри.
8. Неправильні процедурні прийоми, неточне піпетування, неповне промивання, а також неправильне зберігання реагенту можуть бути вказані, коли значення аналізу для контролів не відображають встановлених діапазонів.
9. При зчитуванні мікропланшету наявність бульбашок у мікролунках впливатиме на оптичну густину (ОГ). Обережно видаліть усі бульбашки перед виконанням кроку зчитування.
10. Розчин субстрату (ТМБ) чутливий до світла і повинен залишатися безбарвним, якщо його правильно зберігати. На нестабільність або забруднення може свідчити розвиток синього кольору, і в цьому випадку його не слід використовувати.
11. Буфер для аналізу чутливий до світла і повинен зберігатися в оригінальній темній пляшці подалі від прямих сонячних променів.

12. Під час дозування субстрату і стоп - розчину, не використовуйте піпетки, в яких ці рідини будуть контактувати з будь-якими металевими частинами.
13. Щоб запобігти забрудненню реагентів, використовуйте новий одноразовий наконечник піпетки для дозування кожного реагенту, зразка, стандарту та контролю.
14. Не змішуйте різну кількість партій компонентів у складі тесту та не використовуйте жодних компонентів після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
15. Набір реагентів слід розглядати як небезпечні відходи та утилізувати відповідно до національних правил.

ОБМЕЖЕННЯ

1. Всі реагенти в наборі відкалібровані для безпосереднього визначення 3 α -діолу G у сироватці крові людини. Набір не калібрований для визначення 3 α -діолу G у слині, плазмі та інших зразках людського або тваринного походження.
2. Не використовуйте сильно гемолізовану, сильно ліпемічну, жовтяничну або неправильно збережену сироватку.
3. Будь-які зразки або контрольні сироватки, що містять азид або тимеросал, несумісні з цим набором, оскільки вони можуть призвести до хибних результатів.
4. Тільки стандарт А може бути використаний для розведення будь-яких зразків із високим вмістом сироватки крові. Використання будь-якого іншого реагенту може призвести до хибних результатів.
5. Результати, отримані за допомогою цього набору, ніколи не повинні використовуватися як єдине підґрунтя для клінічного діагнозу. Наприклад, поява гетерофільних антитіл у пацієнтів, які регулярно зазнають впливу тварин або продуктів тваринного походження, може спричинити втручання в імунологічні тести. Отже, клінічний діагноз повинен включати всі аспекти стану пацієнта, включаючи частоту контакту з тваринами / продуктами при підозрі на хибні результати.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ ПОТЕНЦІАЛЬНИЙ БІОЛОГІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИЙ МАТЕРІАЛ

Сироватка людини, яка може бути використана для підготовки стандартів та контролів, була протестована та виявлена нереактивною щодо поверхневого антигену гепатиту В, а також була перевірена на наявність антитіл до ВГС та вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) та виявлена негативною. Однак жоден метод тестування не може дати повних гарантій відсутності ВІЛ, ВГС та вірусу гепатиту В або будь-яких інфекційних агентів. Реагенти слід розглядати як потенційну біологічну небезпеку та поводитись із тими самими запобіжними заходами, що застосовуються до будь-якого зразка крові.

ХІМІЧНІ НЕБЕЗПЕКИ

Уникайте контакту з реагентами, що містять ТМБ, перекис водню та сірчану кислоту. У разі контакту з будь-яким із цих реагентів промити великою кількістю води. ТМБ є підозрюваним на канцероген.

ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ

Приблизно 0,2 мл сироватки потрібно для кожного повторного визначення. Зберіть 4–5 мл крові у відповідну марковану пробірку і дайте їй згорнутися. Центрифугуйте і обережно видаліть шар сироватки. Зберігати при температурі 4 ° С до 24 годин або при -10 ° С або нижче, якщо аналізи потрібно робити пізніше. Враховуйте всі зразки людини як можливі біологічно небезпечні матеріали та вживайте відповідних запобіжних заходів при поводженні.

ПОПЕРЕДНЯ ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Цей аналіз є прямою системою; попередня обробка зразків не потрібна.

РЕАГЕНТИ ТА ОБЛАДНАННЯ ПОТРІБНІ, АЛЕ НЕ НАДАНІ

1. Точні піпетки для дозування 50, 100, 150 та 300 мкл
2. Одноразові наконечники піпеток
3. Дистильована або дейонізована вода
4. Шейкер для мікропланшетів
5. Рідер мікропланшетів з фільтром, встановленим на 450 нм та верхньою межею ОГ 3,0 або більше * (див. Крок 10 процедури аналізу).

НАДАНІ РЕАГЕНТИ

1. АА Е-0030

Концентрат промивного буфера - вимагає підготовки Х10

Зміст: одна пляшка, що містить буфер з неіонним миючим засобом та нертутним консервантом.

Об'єм: 50 мл / флакон

Зберігання: Охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Підготовка: перед використанням розвести 1:10 у дистильованій або дейонізованій воді. Якщо використовується цілий планшет, розведіть 50 мл концентрату промивного буфера в 450 мл води.

2. Субстрат АА Е-0055 ТМБ - готовий до використання.

Зміст: одна пляшка, що містить тетраметилбензидин та пероксид 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. АА Е-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.

Ідентифікація небезпек:



H290 Може бути корозійним для металів.

H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей.

4. Стандарти та контролі - готові до використання.

Нижче наведено приблизні концентрації. Будь ласка, зверніться до етикеток флаконів для точних концентрацій:

Кат. Номер	Позначення	Стандарт	Концентрація	Об'єм
АА Е 1501	Стандарт А	Стандарт А	0 нг/мл	2,0 мл
АА Е 1502	Стандарт В	Стандарт В	0,25 нг/мл	0,6 мл
АА Е 1503	Стандарт С	Стандарт С	1 нг/мл	0,6 мл
АА Е 1504	Стандарт Д	Стандарт Д	3 нг/мл	0,6 мл
АА Е 1505	Стандарт Е	Стандарт Е	10 нг/мл	0,6 мл
АА Е 1506	Стандарт F	Стандарт F	50 нг/мл	0,6 мл
АА Е 1551	Контроль 1	Контроль 1		0,6 мл
АА Е 1552	Контроль 2	Контроль 2		0,6 мл

Для контролів Див. Етикетки на флаконах для очікуване значення і прийнятеного діапазону!

Зміст: 3α Діол G у білковому буфері з нертутним консервантом. Приготований шляхом додавання буфера з додаванням 3α діолу G.

Зберігання: Охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців у нерозкритих флаконах або як зазначено на етикетці. Після відкриття стандарти слід використовувати протягом 14 днів або аліквотувати їх та зберігати замороженими. Уникайте кількох циклів заморожування та розморожування.

5. Буфер аналізу АА Е-1513 - готовий до використання. Нагріти до повного розчинення перед використанням.

Зміст: Один флакон, що містить буфер на основі білка з нертутним консервантом.

Обсяг: 15 мл / флакон

Зберігання: охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

6. AA E-1531 мікропланшет Кролячий Анти-3 α Діол G, покритий антитілами,

Мікролунки розбірні - готові до використання.

Зміст: один 96-лунковий (12x8) мікропланшет, покритий антитілами у герметичній упаковці з осушувачем.

Зберігання: Охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

7. AA E-1540 Кон'югат концентрат Концентрат 3 α діолu G-пероксидази хрому (HRP) - вимагає підготовки X50

Зміст: 3 α діол G-HRP кон'югат у білковому буфері з нертутним консервантом.

Обсяг: 300 мкл / флакон

Зберігання: Охолодженим при 2 - 8 оС

Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Підготовка: Перед використанням розведіть 1:50 у буфері для аналізу (наприклад, 40 мкл HRP у 2 мл буфера аналізу). Якщо потрібно використовувати весь планшет, розведіть 240 мкл HRP у 12 мл буфера аналізу.

Видаліть все, що залишилось.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Попередня обробка зразка: немає.

Перед використанням усі реактиви повинні досягти кімнатної температури. Стандарти, контролі та зразки слід аналізувати у двох примірниках. Після того, як процедуру було розпочато, усі кроки слід виконувати без перерви.

1. Приготуйте робочі розчини кон'югату 3 α Diol G-HRP та буфер для промивання.
2. Видаліть необхідну кількість стріпів лунок. Повторно закрийте пакет і поверніть невикористані стріпи в охолодженим.
3. Піпетують 50 мкл кожного стандарту, контролю та зразку у відповідні марковані лунки у двох примірниках.
4. Піпетуйте 100 мкл робочого розчину кон'югату в кожен лунку. (Ми рекомендуємо використовувати багатоканальну піпетку).
5. Інкубуйте на шейкері для планшетів (приблизно 200 об / хв) протягом 30 хвилин при кімнатній температурі.
6. Промийте лунки 3 рази по 300 мкл розведеного промивного буфера на лунку і щільно постукайте планшетом об абсорбуючий папір, щоб переконатись, що він висох (рекомендується використовувати вошер).
7. Піпетуйте 150 мкл субстрату ТМБ у кожен лунку з певними інтервалами.
8. Інкубуйте планшет на шейкері для планшетів протягом 10-15 хвилин при кімнатній температурі. (або до тих пір, поки Стандарт А не набуде темно-синього кольору для бажаної ОГ)
9. Піпетуйте 50 мкл стоп розчину в кожен лунку з тими ж інтервалами, що й на етапі 7.
10. Прочитайте планшет на пристрої для зчитування мікропланшетів при 450 нм протягом 20 хвилин після додавання стоп розчину. Якщо ОГ перевищує верхню межу виявлення або фільтр 450 нм недоступний, може бути замінений фільтр 405 або 415 нм. Оптичні густини будуть нижчими, однак це не вплине на результати зразків пацієнта / контролі.

РОЗРАХУНКИ

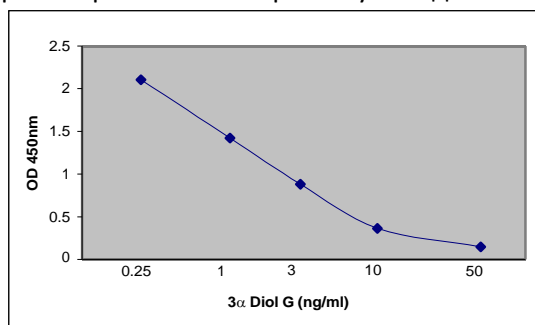
1. Обчисліть середню оптичну густину кожного дублікату стандартів.
2. Накресліть стандартну криву на напівлогарифмічному папері із середніми оптичними густинами на осі Y та стандартними концентраціями на осі X. Якщо використовується програмне забезпечення для імуноаналізу, рекомендується 4-параметрична або 5-параметрична крива.
3. Обчисліть середню оптичну густину кожного невідомого дублікату.
4. Зчитуйте значення невідомих безпосередньо зі стандартної кривої.
5. Якщо показник зразка перевищує 50 нг / мл, розбавте його стандартом А у розведенні не більше 1: 8. Отриманий результат слід помножити на коефіцієнт розведення.

ТИПОВІ ТАБЛИЧНІ ДАНІ:

Стандарт	ОГ 1	ОГ 2	Середня ОГ	Значення(нг/мл)
A	2.480	2.474	2.477	0
B	2.102	2.106	2.104	0.25
C	1.428	1.413	1.421	1
D	0.877	0.883	0.880	3
E	0.360	0.368	0.364	10
F	0.147	0.143	0.145	50
Невідоме	0.598	0.596	0.597	5.4

ТИПОВА СТАНДАРТНА КРИВА

Зразок кривої. Не використовувати для обчислення результатів.



ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

ЧУТЛИВІСТЬ

Нижня межа виявлення обчислюється із стандартної кривої шляхом визначення результуючої концентрації середньої ОГ стандарту А (на основі 10 повторних аналізів) мінус 2 СВ. Отже, чутливість набору прямих 3α-Diol G ІФА становить 0,1 нг / мл.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

(ПЕРЕХРЕСНА РЕАКТИВНІСТЬ)

Наступні сполуки тестували на перехресну реактивність здатність за допомогою набору прямих 3α-Diol G ІФА з перехресною реакцією 3α-Diol G 100%.

Стероїд	% перехресної реактивності
3α Diol G	100
тестостерон	0.2
прогестерон	0.16
андростендіон	0.14
кортизол	0.05

Наступні стероїди були протестовані, але перехресно реагували на рівні менше 0,01%: кортикостерон, дегідроепіандростерон, дигідротестостерон, епіандростерон, 17β-естрадіол та естрон.

ТОЧНОСТЬ В АНАЛІЗІ

Три зразки аналізували по десять разів на одній стандартній кривій.

Результати (у нг / мл) наведені в таблиці нижче

Зразок	Середнє	СВ	CV%
1	0.87	0.07	7.8
2	6.86	0.49	7.2
3	21.26	1.29	6.0

ТОЧНІСТЬ МІЖ АНАЛІЗАМИ

Три зразки аналізували десять разів протягом чотирьох тижнів. Результати (у нг / мл) наведені в таблиці нижче:

Зразок	Значення	СВ	CV%
1	0.98	0.10	10.4
2	7.05	0.46	6.5
3	20.92	2.26	10.8

ВІДНОВЛЕННЯ

Зразки збагачені готували шляхом додавання визначених кількостей 3 α діолу G до трьох зразків сироватки пацієнта. Результати (у нг / мл) наведені в таблиці нижче:

Зразок	Спостеріг. результат	Результат очікуваний	Відновлення%
1 незбагачений	0.67	-	-
+0.5	1.07	1.17	91.4
+5.0	4.99	5.67	88.0
+15.0	12.66	15.67	80.8
2 незбагачених	1.83	-	-
+0.5	2.07	2.33	88.8
+5.0	6.18	6.83	90.5
+15.0	17.64	16.83	104.8
3 незбагачених	12.76	-	-
+0.5	15.32	13.26	115.5
+5.0	19.22	17.76	108.2
+15.0	22.68	27.76	81.7

ЛІНІЙНІСТЬ

Три зразки сироватки пацієнта розбавляли стандартом А. Результати (у нг / мл) наведені в таблиці нижче:

Зразок	Спост. результат	Очікуваний результат	Відновлення %
1	6.24	-	-
1:2	2.83	3.12	90.7
1:4	1.55	1.56	99.4
1:8	0.74	0.78	94.9
2	13.55	-	-
1:2	6.00	6.77	88.6
1:4	2.71	3.39	80.0
1:8	1.70	1.64	103.6
3	17.05	-	-
1:2	6.93	8.53	81.2
1:4	4.09	4.26	96.0
1:8	2.34	2.13	109.8

ОЧІКУВАНІ НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ

Як і для всіх клінічних досліджень, кожна лабораторія повинна збирати дані та встановлювати свій власний діапазон очікуваних нормальних значень.

Група	Діапазон (нг/мл)
Чоловіки	1.53 - 14.82
Пременопауза	0.22 - 4.64
Постменопауза	0.61 - 3.71
Статеве дозрівання (жінки)	0.51 - 4.03

ЛІТЕРАТУРА

1. Jacobi GH, Wilson JD. Formation of 5 α -Androstane-3 α , 17 β -Diol by Normal and Hypertrophic Human Prostate. *J Clin Endocrinol Metab.* 1977; 44(1):107–15.
2. Deslypere JP, et al. Plasma 5 α -Androstane-3 α ,17 β -Diol and Urinary 5 α -Androstane-3 α ,17 β -Diol Glucuronide, Parameters of Peripheral Androgen Action: A comparative study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982; 54(2):386–91.
3. Moghissi E, et al. Origin of Plasma Androstanediol Glucuronide in Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984; 59(3):417–21.
4. Scanlon MJ, et al. Serum Androstanediol Glucuronide Concentrations in Normal and Hirsute Women and Patients with Thyroid Dysfunction. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1988; 29(5):529–38.
5. Reiner BJ, et al. Serum 3 α -Androstanediol Glucuronide Measurements in Sexually Mature Women with Congenital Adrenal Hyperplasia During Therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989; 69(1):105–9.
6. Vexiau P, et al. Increase in plasma 5 α -Androstane-3 α ,17 β -Diol Glucuronide as a Marker of Peripheral Androgen Action in Hirsutism: A Side-effect Induced by Cyclosporine A. *J Steroid Biochem.* 1990; 35(1):133–7.
7. Pang S, et al. 3 α -Androstanediol Glucuronide in Virilizing Congenital Adrenal Hyperplasia: A Useful Serum Metabolic Marker of Integrated Adrenal Androgen Secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 73(1):166–74.
8. Riddick L, et al. 3 α -Androstanediol Glucuronide in Premature and Normal Pubarche. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 72(1): 46–50.
9. 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:

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо для <N> випробувань
 Дата закінчення терміну придатності	LOT Код партії	IVD Тільки для ін вітро діагностики в лабораторних умовах!
 Зверніться до інструкції по застосуванню	CONT Зміст	CE Маркування
 Обережно	REF Каталожний номер	