



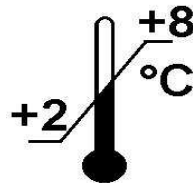
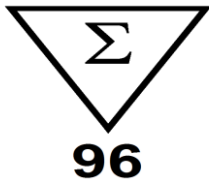
LDN Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG
Am Eichenhain 1, 48531 Nordhorn
Telefon: +49-5921-8197 0
Telefax: +49-5921-8197 222
e-mail: info@ldn.de
Internet: <http://www.ldn.de>

LDN®

Інструкція з використання

кортикостерон **ELISA**

REF MS E-5400



CEIVD

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

ВСТУП

Кортикостерон ELISA є імуноферментним аналізом для кількісного діагностичного вимірювання in vitro кортикостерону в сироватці крові та плазмі.

Загальна інформація та пояснення

Кортикостерон - це глюкокортикоїд, секретований корою надниркової залози. Кортикостерон виробляється у відповідь на стимуляцію кори наднирників адренкортикотропним гормоном (АКТГ) і є попередником альдостерону. Кортикостерон є основним показником стресу, оскільки стрес збільшує вироблення кортикостероїдів.

Дослідження, що стосуються кортикостерону та рівнів стресу, включають порушення функції тривалого зберігання пам'яті, хронічно підвищений рівень кортикостерону внаслідок обмежень дієти 2 і у відповідь на опікові травми³. На додаток до стресу рівень кортикостерону, як вважають, відіграє вирішальну роль у моделюванні сну. 4.5.

ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Набір ELISA кортикостерон - це твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA), який базується на принципі конкурентного зв'язування.

Лунки мікропланшета покриті поліклональним антитілом, спрямованим до антигенного сайту на молекулі кортикостерону. Ендогенний кортикостерон зразка пацієнта конкурує з кортикостероном пероксидазою хроно кон'югатом для зв'язування з антитілом покриття. Після інкубації незв'язаний кон'югат змивається.

Кількість кон'югату зв'язаної пероксидази зворотно пропорційна концентрації кортикостерону в зразку. Після додавання розчину субстрату інтенсивність кольору, що розвивається, зворотно пропорційна концентрації кортикостерону у зразку хворого.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

1. Цей набір призначений тільки для діагностики in vitro. Тільки для професійного використання.
2. Всі реактиви цього тест-набору, які містять людську сироватку або плазму, були протестовані та підтверджені негативними для ВІЛ-інфекції I / II, HBsAg та ВЦЗ, згідно процедур, затверджених FDA. Всі реактиви, однак, повинні розглядатися як потенційно біологічно небезпечні у використанні та для утилізації.
3. Перед початком аналізу прочитайте інструкції повністю та обережно. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладену в пакет набору. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
4. Мікропланшет містить відрізнi стріпи. Незастосовувані лунки повинні зберігатися при температурі від 2 ° C до 8 ° C у герметичному пакеті з фольги та використовуватися у наданому тримачу.
5. Прокапування зразків та реагентів повинно виконуватися якомога швидше і в тій же послідовності для кожного кроку.
6. Використовуйте резервуари лише для окремих реагентів. Це особливо стосується резервуарів субстрату. Використання резервуару для дозування розчину субстрату, який раніше використовувався для розчину кон'югату, може привести до забарвлення розчину. Не вливайте реагенти назад у флакони, оскільки може виникнути забруднення реагентом.
7. Добре змішайте вміст лунок мікропланшетів, щоб забезпечити хороші результати випробувань. Не використовувати мікролунки повторно.
8. Не допускайте висихання лунок під час аналізу; додайте реагенти відразу після завершення

процедур промивання.

9. Перед тим, як розпочати тестування, дозвольте реагентам досягати кімнатної температури (від 21 ° C до 26 ° C). Температура буде впливати на показники абсорбції аналізу. Однак значення для зразків пацієнта не впливатимуть.

10. Ніколи не прокапувати ротовою порожниною та уникайте контакту реагентів та зразків шкірою та слизовими оболонками.

11. Не курити, не їсти, не пити та не наносити косметику в районах, де обробляються зразки чи комплектуючі реактиви.

12. Під час обробки зразків та реагентів одягніть одноразові латексні рукавички. Мікробне забруднення реагентів або зразків може давати хибні результати.

13. Обробка повинна здійснюватися відповідно до процедур, визначених відповідним національним законодавством щодо біологічної небезпеки, керівництвом з безпеки або регулюванням.

14. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, як указано на етикетках набору.

15. Всі вказані обсяги повинні виконуватися відповідно до протоколу. Оптимальні результати отримуються тільки при використанні каліброваних піпеток та рідерів мікропланшетів.

16. Не змішувати та не використовувати компоненти з наборів з різними номерами партії.

Рекомендується не обмінювати лунки різних планшетів навіть однієї партії. Набори можуть бути відправлені або зберігатися в різних умовах і характеристики зв'язування пластин можуть стати дещо різними.

17. Уникайте контакту з СТОП розчином, що містить 0,5 М H₂SO₄. Це може спричинити подразнення шкіри та опіки.

18. Деякі реагенти містять Proclin 300, BND та / або MIT як консерванти. У разі контакту з очима або шкірою негайно промити водою.

19. ТМБ субстрат має подразнюючу дію на шкіру та слизову оболонку. У разі можливого контакту промийте очі з рясним об'ємом води і шкіру з милом і великою кількістю води. Промити забруднені об'єкти раніше перед їх повторним використанням. Якщо вдихнути, вивести людину на відкрите повітря.

20. Хімікати та підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національних директив щодо біологічної небезпеки або регулюванням.

21. Для отримання інформації про небезпечні речовини, включені в комплект, зверніться до Паспортів з безпеки матеріалів.

РЕАГЕНТИ

Реагенти надані

MS E-5431 Мікропланшет

12x8 (розборних) стрипів , 96 лунок; лунки покриті антикортикостероновим антитілом (поліклональним).

Стандарти

	Каталожний номер	стандарт	концентрація	Обсяг/флаконт
CAL 0	MS E-5401	Standart A (0)	0 нмоль/л	1 мл
CAL 1	MS E-5402	Standart B (1)	5 нмоль/л	1 мл
CAL 2	MS E-5403	Standart C (2)	15 нмоль/л	1 мл
CAL 3	MS E-5404	Standart D (3)	30 нмоль/л	1 мл
CAL 4	MS E-5405	Standart E (4)	60 нмоль/л	1 мл
CAL 5	MS E-5406	Standart F (5)	120 нмоль/л	1 мл

CAL 6	MS E-5407	Standart G (6)	240 нмоль/л	1 мл
CONTROL 1	MS E-5451	Control 1	Для контрольних значень і діапазонів, будь ласка, зверніться до етикеток флаконів або КЯ таблиць	1 мл
CONTROL 2	MS E-5452	Control 2		1 мл

готові до використання

Перетворення: 1 нмоль / л = 34,646 нг / дл = 0,34646 нг / мл

Містить не-ртутний консервант

CONJUGATE CONC MC E-5440 Кон'югат ферменту, концентрат 250X

1 флакон, 150 мкл, кортикостерон, кон'югований з пероксидазою хрому, див. "Підготовка реагенту".

CONJUGATE DIL MS E-5461 розчинник кон'югату

1 флакон, 25 мл, готовий до використання.

Substrate SA E-0055 розчин субстрату

1 флакон, 25 мл, готовий до використання; Тетраметілбензидін (ТМБ).

Stop Soln FR E-0080 стоп розчин

1 флакон, 14 мл, готовий до використання; містить 0,5 М H₂SO₄.

Уникати контакту з стоп розчином. Це може викликати подразнення шкіри та опіки.

WASH-CONC 40 x FR E-0030 Промивний розчин

1 флакон, 30 мл (40X концентрований); див. "Підготовка реагенту".

Примітка: додатковий стандарт А для зразків доступний за запитом.

Необхідні матеріали, але не надані

- калібрований рідер мікропланшету (450 ± 10 нм)
- Калібровані мікропіпетки із змінною точністю.
- абсорбуючий папір
- дистильована або деіонізована вода
- Таймер
- Напівлогарифмічний графічний папір або програмне забезпечення для обробки даних

Умови зберігання

При зберіганні при температурі від 2 ° С до 8 ° С нерозкриті реагенти зберігають реактивність до закінчення терміну придатності. Не використовуйте реагенти поза цією датою.

Відкриті реагенти необхідно зберігати при температурі від 2 ° С до 8 ° С. Лунка мікропланшету повинна зберігатись при температурі від 2 ° С до 8 ° С. Як тільки пакет з фольги був відкритий, потрібно подбати про те, щоб знову щільно закрити його.

Підготовка реагенту

Перед використанням доведіть всі реагенти та необхідну кількість стрічок до кімнатної температури.

Промивний розчин

Розбавте 30 мл концентрованого промивного розчину з 1170 мл деіонізованої води до кінцевого об'єму 1200 мл.

Розведений промивний розчин стабільний протягом 2 тижнів при кімнатній температурі.

Ферментний кон'югат

Розчиніть концентрат кон'югату ферменту 1 + 250 у розчиннику кон'югату.

Цей розчин повинен бути приготований свіжим.

Якщо використовується весь мікропланшет, розбавте 100 мкл ферментного кон'югату з 25 мл кон'югатним розчинником.

Якщо весь планшет не використовують відразу, приготуйте тільки потрібну кількість кон'югату ферменту.

Утилізація набору

Утилізація набору повинна бути зроблена відповідно до національних правил. Спеціальна інформація для цього продукту наведена в Паспортах з безпеки матеріалів.

Пошкоджені тестові набори

У випадку будь-якого серйозного пошкодження випробувального набору чи компонентів, виробник повинен бути повідомлений у письмовій формі, не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Сильно пошкоджені окремі компоненти не повинні використовуватися для прогону аналізу. Вони повинні зберігатися до остаточного рішення. Після цього їх слід утилізувати відповідно до офіційних правил.

ЗАБІР ЗРАЗКІВ ТА ПІДГОТОВКА

У цьому дослідженні можна використовувати сироватку або EDTA плазму.

Не використовуйте гемолітичні, жовтяничні або ліпемічні зразки.

Зверніть увагу: проби, що містять азид натрію, не повинні використовуватися в аналізі.

Забір зразків

Сироватка:

Збирайте кров за допомогою венепункції (наприклад, Sarstedt Monovette для сироватки), дозволяйте згорнутися та відокремте сироватку шляхом центрифугування при кімнатній температурі. Не робіть центрифугування, перш ніж повне згортання не відбулося. Пацієнти, що отримують антикоагулянтну терапію, можуть вимагати збільшення часу згортання крові.

Плазма:

Цільну кров слід збирати в центрифужні пробірки, що містять антикоагулянти, та негайно центрифугувати після збирання (наприклад, Sarstedt Monovette для плазми EDTA).

Зберігання та підготовка зразків

Зразки повинні бути закриті та можуть зберігатися протягом 24 годин при 2-8 ° C перед аналізом.

Зразки, що зберігаються довше, слід заморозувати лише один раз при -20 ° C перед аналізом.

Відталені зразки повинні бути перевернуті кілька разів перед аналізом.

Розведення зразків

Якщо в ході початкового аналізу виявлено, що зразок містить більше, ніж найвищий стандарт, зразки можуть бути розбавлені Стандартом А та переаналізовані, як описано в процедурі аналізу.

Для розрахунку концентрацій слід враховувати цей коефіцієнт розведення.

Приклад:

а) розведення 1:10: 10 мкл сироватки + 90 мкл стандарт А (ретельно перемішати)

б) розведення 1: 100: 10 мкл розведення а) 1:10 + 90 мкл стандарту А (ретельно перемішати).

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Загальні зауваження

- Перед використанням всі реагенти та зразки повинні бути доведені до кімнатної температури. Всі реактиви повинні бути змішані без спінювання.

- Коли випробування буде розпочато, всі кроки повинні бути завершені без перерви.
- Використовуйте нові одноразові пластикові наконечники для піпетки для кожного стандарту, контролю або зразку, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Абсорбція є функцією часу і температури інкубації. Перед початком аналізу рекомендується, щоб усі реагенти були готові, зняті ковпачки, всі необхідні лунки були закріплені утримувачем тощо. Це забезпечить рівний проміжок часу для кожного етапу прокапування без перерви.
- за загальним правилом ферментативна реакція лінійно пропорційна часу та температурі.

Процедура аналізу

Кожен прогон повинен містити стандартну криву.

1. Закріпіть необхідну кількість лунок мікропланшету в тримачу.
2. Розподіліть 20 мкл кожного стандарту, контролю та зразків новими одноразовими наконечниками у відповідні лунки.
3. Розподіліть 200мкл ферментного кон'югату в кожен лунку.
4. Ретельно перемішайте протягом 10 секунд. Важливо мати повне змішування на цьому етапі.
5. Інкубуйте протягом 60 хвилин при кімнатній температурі.
6. Швидко витрусіть вміст лунок. Промити лунки 3 рази розведеним розчином для миття (400 мкл на лунку). Струсіть лунки різко на абсорбуючий папір для видалення залишкових крапель.

Важлива примітка:

На чутливість та точність цього аналізу помітно впливає правильність виконання процедури промивки!

7. До кожної лунки додайте 100 мкл розчину субстрату.
8. Інкубувати 15 хвилин при кімнатній температурі.
9. Зупиніть ферментативну реакцію, додаючи до кожної лунки 50мкл стоп-розчину.
10. Через 10 хвилин після додавання "Стоп розчину" прочитайте оптичну густину (ОГ) при 450 ± 10 нм рідером мікропланшетів.

Розрахунок результатів

1. Обчислити середні значення абсорбції для кожного набору стандартів, контролів та зразків пацієнтів.
2. Використовуючи напівлогарифмічний графічний папір, побудуйте стандартну криву шляхом побудови отриманого середнього поглинання від кожного стандарту від його концентрації з величиною поглинання по вертикалі (Y) і концентрації на горизонтальній (X) вісі.
3. Використовуючи середнє значення абсорбції для кожного зразка, визначте відповідну концентрацію з стандартної кривої.
4. Автоматизований метод: результати були розраховані автоматично за допомогою 4 PL (4 Параметр Логістика) кривої відповідності. 4 Параметр Логістика є найкращим методом. Інші функції обробки даних можуть дати трохи інші результати.
5. Концентрацію зразків можна прочитати безпосередньо з цієї стандартної кривої. Зразки з концентрацією вище, ніж та, що відповідає найвищому стандарту, слід додатково розводити або повідомляти як <240 нмоль / л. Для розрахунку концентрацій, необхідно враховувати цей коефіцієнт розведення.

Приклад типовій стандартної кривої

Наступні дані призначені лише для демонстрації та не можуть бути використані замість покоління даних на момент аналізу

стандарт	Оптичні одиниці (450 нм)
Стандарт А (0 нмоль/л)	2.31
Стандарт В (5 нмоль/л)	1.69
Стандарт С (15 нмоль/л)	1.35
Стандарт D (30 нмоль/л)	1.10
Стандарт Е (60 нмоль/л)	0.87
Стандарт F (120 нмоль/л)	0.63
Стандарт G (240 нмоль/л)	0.48

Очікувані нормальні значення

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія визначала власні нормальні та ненормальні значення.

У дослідженні, проведеному з очевидно нормальними здоровими дорослими, використовуючи ELISA кортикостерону, наступні значення спостерігаються:

№	5% центиль	95% центиль
74	6,53 нмоль/л	31,09 нмоль/л
	226,24 нг/дл	1077,14 нг/дл

Тільки результати поодиночі не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Результати повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Належна лабораторна практика вимагає, щоб контроль проводився з кожною калібрувальною кривою. Статистично значима кількість контролів повинна бути перевірена для встановлення середніх значень та прийнятних діапазонів для забезпечення належної продуктивності.

Рекомендується використовувати контрольні зразки відповідно до державних та федеральних правил. Використання контрольних зразків рекомендується для забезпечення повсякденної дійсності результатів. Використовуйте контролю як нормальних, так і патологічних рівнів.

Контролі та відповідні результати КЯ-лабораторії вказані в сертифікаті КЯ, доданому до набору. Значення та діапазони, зазначені на листі КЯ, завжди відносяться до поточної партії наборів і повинні використовуватися для прямого порівняння результатів.

Також рекомендується скористатись національними чи міжнародними програмами оцінки якості для того, щоб забезпечити точність результатів.

Використовуйте відповідні статистичні методи для аналізу контрольних значень та тенденцій. Якщо результати аналізу не відповідають встановленим прийнятним діапазнам контрольних матеріалів, результати пацієнта повинні вважатися недійсними.

У цьому випадку, будь-ласка, перевірте наступні технічні напрями: пристрої прокапування та синхронізації; фотометр, термін придатності реагентів, умови зберігання та інкубації, аспірації та методів миття. Після перевірки вищезгаданих елементів, не знайшовши помилки, зверніться до свого дистриб'ютора

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИКОНАННЯ.

Динамічний діапазон аналіза

Діапазон випробувань становить від 1,63 до 240 нмоль / л.

Специфічність антитіл (перехресна реактивність).

Наступні речовини були проаналізовані для перехресної реактивності аналізу:

компонент	Перехресна реактивність
кортикостерон	100%
прогестерон	7,4%
деоксикортикостерон	3,4%
11-дегідрокортикостерон	1,6%
кортизол	0,3%
прегненолон	0,3%
Інші стероїди	<0.1%

Чутливість

Аналітична чутливість ELISA була розрахована шляхом віднімання 2 стандартних відхилень від середнього з 20-ти повторюваних аналізів стандарту А, і було встановлено, що <1,63 нмоль / л.

Відтворюваність

В аналізі

Варіабельність в аналізі показана нижче :

зразок	кількість	Середнє (нмоль/л)	CV (%)
1	12	108,62	2,77
2	12	79,17	2,44
3	12	24,28	4,08

Між аналізами

зразок	кількість	Середнє (нмоль/л)	CV (%)
1	26	104,42	6,14
2	26	74,83	6,35
3	26	25,17	5,54

Відновлення

Зразки були збагачені, додаванням розчинів кортикостерону з відомими концентраціями.% відновлення було розраховано множенням співвідношення вимірювань та очікуваних величин з 100.

зразок	Ендогенний (нмоль/л)	Доданий (нмоль/л)	Виміряна концентрація (нмоль/л)	Очікувана концентрація (нмоль/л)	Відновлення (%)
1 сироватка	12,20	0,00	12,50	72,20	95,2
		60,00	68,70		
		30,00	41,20		
		15,00	26,70		
2 сироватка	42,20	0,00	40,50	102,20	97,0
		60,00	99,10		
		30,00	69,10		
		15,00	59,20		
3 сироватка	60,62	0,00	63,30	120,62	105,7
		60,00	127,50		
		30,00	95,20		
		15,00	76,30		

Линійність

зразок	розведення	Виміряна концентрація (нмоль/л)	Очікувана концентрація (нмоль/л)	Відновлення (%)
1	Немає	157,0	157,00	101,3
	1:2	79,50	78,50	
	1:4	37,80	39,25	
	1:8	20,10	19,63	
	1:16	10,20	9,81	
2	Немає	55,10	55,10	102,7
	1:2	28,30	27,55	
	1:4	13,20	13,78	
	1:8	6,57	6,89	
3	Немає	27,80	27,80	99,3
	1:2	13,80	13,90	
	1:4	6,90	6,95	
	1:8	3,30	3,48	

ОБМЕЖЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Надійні і відтворювані результати будуть отримані, коли процедура аналізу виконується з повним розумінням інструкції, вкладеної в набір і з дотриманням належної лабораторної практики. Будь-яке неправильне поводження зі зразками або модифікація даного тесту може вплинути на результати.

Впливаючі речовини

Гемоглобін (до 4 мг / мл), білірубін (до 0,125 мг / мл) і тригліцериди (до 30 мг / мл) не мають впливу на результати аналізу.

Вплив ліків

До цих пір невідомо ніяких речовин (лікарських засобів), які впливають на вимірювання Кортикостерону у зразку.

Висока доза-ефект крюк

Ні один крюк ефект не спостерігався в цьому тесті.

ПРАВОВІ АСПЕКТИ

Достовірність результатів

Тест має бути виконано точно відповідно до інструкцій виробника щодо застосування. До того ж користувач повинен строго дотримуватися правил GLP (належної лабораторної практики) або інших застосованих національних стандартів та / або законів. Це особливо актуально для використання контрольних реагентів. Важливо завжди включати в рамках процедури аналізу достатню кількість контролів для перевірки правильності і точності тесту. Результати випробувань дійсні тільки тоді, коли всі контролі знаходяться в межах зазначених діапазонів, і якщо всі інші параметри випробувань також знаходяться в рамках заданих специфікацій аналізу. У разі виникнення будь-яких сумнівів або занепокоєння, будь ласка, контакуйте з нами.

Терапевтичні наслідки

Терапевтичні наслідки не повинні ґрунтуватися на результатах лабораторних аналізів в поодиночці, навіть якщо всі результати випробувань знаходяться в угоді з деталями, як зазначено в пункті "Достовірність результатів". Будь-який результат лабораторного дослідження є лише частиною в загальній клінічній картині пацієнта. Тільки в тих випадках, коли лабораторні результати знаходяться в прийнятній згоді із загальною клінічною картиною, пацієнт повинен отримати терапевтичні наслідки. Сам тест результат ніколи не повинен бути єдиним фактором, що визначає отримання будь-яких терапевтичних наслідків.

Відповідальність

Люба модифікація тест-набору та / або обмін або суміш будь-яких компонентів різних партій з одного тест-набору до іншого може негативно вплинути на очікувані результати та достовірність загального результату аналізу. Така модифікація і / або обміни визнаються недійсними для будь-яких претензій на заміну. Претензії, подані клієнтом у зв'язку неправильною інтерпретацією результатів лабораторних досліджень з урахуванням пункту "Терапевтичні Наслідки" також є недійсними. Незважаючи на це, в разі будь-яких претензій, відповідальність виробника не перевищує значення тестового набору. Будь-яка шкода, завдана тестовому набору під час транспортування не підлягає до відповідальності виробника.

ЛІТЕРАТУРА

1. Hupe, J.M., et al, Nature, 1998, 394, 784-787.
2. Kitaysky A.S., et al, J. Comp. Physiol, 2001, 171, 701-709.
3. Thellin O, Noel G, Khuana S, Ogle CK and Horseman N, Shock, 2001, 16(5), 393-397.
4. Krame, K.M., Sothorn R.B., Chronobiol. Int., 2001, 18(6), 933-945.
5. Vazquez-Palacios G, et al, Pharmacol. Biochem Behavior, 2001, 70(2-3), 305-310.

Умовні позначення:

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо для <N> випробувань
 Дата закінчення строка дії	LOT Код партії	IVD Тільки для діагностики в лабораторних умовах!



Звертайтеся до інструкції по
експлуатації

CONT зміст

CE Маркіровка