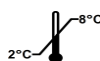


# Інструкція з використання ДГЕА-С Слина ІФА вільний



Please use only the valid version of the Instructions for use provided with the kit

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

**REF****SA E-6500****IVD****CE**

## ДГЕА-С Слина ІФА

### 1. Призначення

Конкурентний імуоферментний колориметричний метод для кількісного

визначення концентрації ДГЕА-С у слині. ДГЕА-С ІФА (Слина) призначений лише для лабораторного використання.

#### 1.1 Клінічне значення

Дегідроепіандростерон сульфат (ДГЕА-С) - ендогенний природний стероїдний гормон з 19 атомами вуглецю. Це головний стероїдний гормон, що виробляється секрецією надниркових залоз, але він також виробляється в статевих залозах і мозку. ДГЕА-С є найпоширенішим циркулюючим стероїдом у людей. ДГЕА-С є природним стероїдним гормоном, який знаходиться переважно в нирках, і він походить від ферментативного перетворення ДГЕА в тканинах надниркових та надниркових залоз. Це найпоширеніший гормон в організмі людини і є попередником всіх статевих стероїдів. Оскільки більша частина ДГЕА-С виробляється наднирковою зоною, існує аргумент, що існує певна роль у імунній та стресовій реакції. ДГЕА-С може виконувати більше біологічних ролей: наприклад, його вироблення в мозку передбачає роль нейростероїда. Більшість ДГЕА-С у слині не зв'язана з білками і потрапляє в слину за допомогою внутрішньоклітинних механізмів. На рівні слини ДГЕА-С не впливають швидкість потоку слини або ферменти слини. Вимірювання сироваткового ДГЕА-С є корисним маркером синтезу андрогену надниркових залоз. Повідомлялося про аномально низькі рівні в гіпоадrenalізмі, тоді як підвищені рівні виникають у кількох станах, наприклад вірилізуюча аденома та карцинома надниркових залоз, дефіцит 21-гідроксилази та 3β-гідроксистероїддегідрогенази, а в деяких випадках і жіночий гірсутизм. Жінки з синдромом полікістозу яєчників, як правило, мають нормальний або незначно підвищений рівень ДГЕА-С.

1 мл

## 2. Принцип

ДГЕА-С (антиген) у зразку конкурує з антигенним ДГЕА-С, кон'югованим з пероксидазою хрому (HRP), за зв'язування з обмеженою кількістю антитіл проти ДГЕА-С, покритих мікропланшетом (тверда фаза). Після інкубації зв'язаний/ вільний розділення проводиться простим твердофазним промиванням. Потім фермент HRP у зв'язаній фракції реагує з Субстратом (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) та Субстратом ТМБ та розвиває синій колір, який змінюється на жовтий при додаванні стоп-розчину (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Інтенсивність кольору обернено пропорційна концентрації ДГЕА-С у зразку. Концентрація ДГЕА-С у зразку розраховується за стандартною кривою.

## 3. Реагенти, матеріали та прилади

### 3.1 Реагенти та матеріали, що входять до набору

#### Стандарти та контролю

<b>SA E-6551</b>	<b>CONTROL 1</b>	Контроль низький	Див. Етикетки на флаконах	
<b>SA E-6552</b>	<b>CONTROL 2</b>	Контроль високий	для значення та прийнятного діапазону!	1 мл

**INC-BUFF**

**SA E-6513 Буфер інкубації**

(1 флакон) 30 мл; Фосфатний буфер рН 7.5, БСА 1 г/л

**CONJUGATE-CONC**

**SA E-6540 Кон'югат**

(1 флакон) 1 мл; ДГЕА-С кон'югований з пероксидазою хрому (HRP)

**SA E-6531 Мікропланшет**

(1 мікропланшет розбірний); Анти-ДГЕА-С антитіла нанесені на мікропланшет

**WASH-CONC 50x**

**SA E-0030 Концентрат промивний розчин 50X**

(1 флакон) 20мл; NaCl 45 г/л; Твін 20, 55 г/л

**SUBSTRATE**

**MS E-0055 ТМБ Субстрат**

(1 флакон) 15 мл; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ТМБ 0.26 г/л, (уникати контакту зі шкірою)

**STOP-SOLN**

**MS E-0080 Стоп розчин**

(1 флакон) 15 мл; сірчана кислота 0.15 моль/л (уникати контакту зі шкірою)

Ідентифікація  
небезпеки:



H290 Може бути корозійним для металів.

H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей

**3.2. Реактиви необхідні , не постачаються**

Дистильована вода.

**3.2 Допоміжні матеріали та прилади**

Автоматичний дозатор.

Рідер мікропланшетів (450 нм, 620-630).

Пристрій для збору слини, напр. SALI SET 100 SA D-6100 або Salivette Sarstedt 51.1534.500

**Примітка**

Зберігайте всі реактиви при температурі 2–8 ° С у темряві. Відкривайте пакет з мікропланшетом з покриттям лише тоді, коли він має кімнатну температуру, і закривайте відразу після використання; після відкриття мікропланшет стабільний до закінчення терміну придатності набору.

**4. Попередження**

-Цей набір призначений для використання in vitro лише професійними особами. Не для внутрішнього або зовнішнього використання у людей або тварин.

-Під час роботи з реагентами використовуйте відповідні засоби індивідуального захисту. Дотримуйтесь належної лабораторної практики (НЛП) щодо поводження з продуктами крові.

- Деякі реагенти містять невелику кількість Проклін 300 як консервант. Уникайте контакту зі шкірою або слизовою.

- Субстрат ТМБ містить подразник, який може бути шкідливим при вдиханні, попаданні всередину або всмоктуванні через шкіру.

- Щоб запобігти травмуванню, уникайте вдихання, потрапляння всередину або контакту зі шкірою та очима.

- Стоп-розчин складається з розведеного розчину сірчаної кислоти. Сірчана кислота отруйна і їдка і може бути токсичною при попаданні всередину. Щоб запобігти хімічним опікам, уникайте контакту зі шкірою та очима. Уникайте потрапляння реагенту ТМБ/ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> під пряме сонячне світло, метали або окислювачі. Не заморожуйте розчин.

- Цей метод дозволяє визначати ДГЕА-С від 0,2 нг / мл до 12 нг / мл. Клінічне значення визначення ДГЕА-С може бути недійсним, якщо пацієнта лікували кортизоном або природними або синтетичними стероїдами.

**5. Запобіжні заходи**

- Будь ласка, чітко дотримуйтесь послідовності кроків піпетування, передбаченої цим протоколом. Дані про ефективність, представлені тут, були отримані з використанням конкретних реагентів, перелічених у цій Інструкції з використання.

- Усі реагенти слід зберігати в холодильнику при температурі від 2 ° С до 8 ° С в оригінальній упаковці. Будь-які винятки чітко вказані. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності при зберіганні та обробці, як зазначено. Дайте всім компонентам і зразкам набору досягти кімнатної температури (22 ° С - 28 ° С) і добре перемішайте перед використанням.

- Не обмінюйте компоненти набору з різних партій. Необхідно дотримуватися терміну придатності, надрукованого на етикетках на коробці та флаконах. Не використовуйте будь-який компонент набору після закінчення терміну придатності.

Версія : 8.0-b

2018-06-20

3/14

- Якщо ви використовуєте автоматизоване обладнання, користувач несе відповідальність за те, щоб набір був протестований належним чином.
- Неповне або неточне видалення рідини з лунок може вплинути на точність аналізу та / або збільшити фон. Для підвищення продуктивності набору в автоматичних системах рекомендується збільшити кількість промивань. Важливо, щоб час реакції в кожній лунці підтримувався постійним для відтворюваних результатів. Піпетування зразків не повинно тривати більше десяти хвилин, щоб уникнути дрейфу аналізу. Якщо потрібно більше 10 хвилин, дотримуйтеся того самого порядку розподілу. Якщо використовується більше одного планшета, рекомендується повторити криву реакції на дозу в кожній пластині
- Додавання розчину субстрату ТМБ ініціює кінетичну реакцію, яка припиняється додаванням стоп-розчину. Отже, субстрат ТМБ і стоп-розчин слід додавати в одній послідовності, щоб усунути будь-які відхилення в часі під час реакції. Дотримуйтеся рекомендацій щодо проведення контролю якості в медичних лабораторіях, аналізуючи засоби контролю та / або об'єднані зразки слини.
- Для відновлення та дозування реагентів потрібна максимальна точність.
- Рідери планшетів вимірюють вертикально. Не торкайтесь дна лунок.

## 6. Процедура

### 6.1. Підготовка стандарту (стандарт А-Е)

Перед використанням перемішуйте протягом 5 хвилин обертовим міксером. Стандарти готові до використання та мають такі концентрації ДГЕА-С:

	Стд. А	Стд. В	Стд. С	Стд. D	Стд. Е
Нг/мл	0	0.2	1.0	3.0	12.0

Зразки з концентрацією більше 12,0 нг / мл слід розбавляти 1: 2 стандартом А. Після відкриття Стандарти стабільні при 2 ° С - 8 ° С протягом 6 місяців. Для одиниць SI: нг / мл x 2,71 = нмоль / л

### 6.2. Приготування розведеного кон'югату

Готуйте безпосередньо перед використанням. Додайте 10 мкл кон'югату до 1,0 мл інкубаційного буфера. Акуратно перемішати. Стабільний 3 години при кімнатній температурі (22 ° С - 28 ° С).

### 6.3. Приготування промивного розчину

Перед використанням розбавте вміст кожного флакона з промивним розчином концентрату дистильованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл. Для менших обсягів дотримуйтеся коефіцієнта розведення 1:50. Розведений промивний розчин стабільний протягом 30 днів при 2 ° С - 8 ° С.

### 6.4. Підготовка зразка

Визначення ДГЕА-С за допомогою цього набору слід проводити у слині. Зразки слини рекомендується збирати за допомогою скляної пробірки для центрифуги та пластикової соломинки за допомогою набору Sali (№ за каталогом SA D-6100) або з "Salivette" (Сарштедт, посилання 51.1534.500). Інші комерційні пристрої для збору зразків не випробувались.

#### 6.4.1 Метод та обмеження

Збирайте зразки слини у зазначений час. Якщо конкретних вказівок не дано, зразки слини можуть бути зібрані в будь-який час, звертаючи увагу на наступні показання:

- Якщо збір слини проводиться вранці, переконайтеся, що це проводиться до чищення зубів
- Протягом дня дозволяйте збір через 1 годину після їжі, перорального прийому фармацевтичних препаратів або чищення зубів.
- Дуже важливо, щоб була отримана хороший прозорий зразок - тобто відсутність забруднення їжею, помадою, кров'ю (кровоточивість ясен) або іншими сторонніми матеріалами.

#### 6.4.2. Інструкції з збору слини зі скляними пробірками

Нехай слина стікає через соломинку в скляну центрифужну пробірку.

1. Центрифугуйте зразок протягом 15 хвилин при 3000 об / хв
2. Зберігати при -20 ° С принаймні 1 годину
3. Знову центрифугуйте протягом 15 хвилин при 3000 об / хв
4. Зразок слини готовий до тестування.
5. Зберігайте зразок при температурі 2 ° С - 8 ° С протягом одного тижня або при -20 ° С протягом тривалого часу.

#### 6.4.3. Інструкції з обробки слини за допомогою Salivette Sardstedt

1. Вийміть тампон із підвішеної вставки саліветти
2. Акуратно пережовуючи тампон протягом 1 хвилини, утворюється достатня кількість слини.
3. Вставте тампон в саліветту і щільно закрийте пробірку за допомогою пробки.
4. Центрифугуйте Salivette протягом 2 хвилин при 1000g (rcf) для утворення слини.
5. Вийміть вставку в комплекті з тампоном із посудини для центрифуги та викиньте. Тепер прозора слина готова до аналізу (цим методом слід виділити щонайменше 1 мл слини).

## 6.5. Процедура

- **Дайте реагентам досягти кімнатної температури (22 ° C - 28 ° C).** В кінці аналізу негайно зберігайте реагенти при температурі від 2 ° C до 8 ° C: уникайте тривалого впливу кімнатної температури.
- Невикористані покриті стріпи мікропланшету слід надійно закрити у фольгованому пакеті, що містить осушувач, і зберігати при температурі від 2 ° C до 8 ° C.
- Щоб уникнути потенційного мікробного та / або хімічного забруднення, невикористані реагенти ніколи не слід переносити в оригінальні флакони.
- Оскільки визначення потрібно проводити у двох примірниках, щоб підвищити точність результатів випробувань, підготуйте дві лунки для кожної точки стандартної кривої (Std. AE), дві для кожного контролю, дві для кожного зразка, одну для Бланк .

Реагент	Стандарт	Зразок/Контролі	Бланк
Зразок/Контролі		50 мкл	
Стандарти А-Е	50 мкл		
Розведений кон'югат	150 мкл	150 мкл	
Інкубуйте при температурі 37 ° C протягом 15 хвилин. Вийміть вміст з кожної лунки; промити лунки 3 рази 0,3 мл розведеного промивного розчину. Важливе зауваження: Під час кожного етапу промивання обережно струшуйте планшет протягом 5 секунд і видаліть надлишки розчину, постукаючи перевернутим планшетом по абсорбуючому паперовому рушнику. Автоматична промивка: якщо ви використовуєте автоматизоване обладнання, промивайте лунки принаймні 5 разів.			
ТМБ Субстрат	100 мкл	100 мкл	100мкл
Інкубуйте при кімнатній температурі (22 ° C - 28 ° C) протягом 15 хвилин у темряві.			
Стоп розчин	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Акуратно струсіть мікропланшет. Прочитайте поглинання (E) при 450 нм проти референтної довжини хвилі 620-630 нм або проти Бланк протягом 5 хвилин.			

## 7. Контроль якості

Кожна лабораторія повинна проводити аналіз контролів при нормальному, високому та низькому рівнях ДГЕА-С для моніторингу результатів аналізу. Ці контролі слід розглядати як невідомі та значення, що визначаються в кожній проведеній процедурі тестування. Слід вести діаграми контролю якості, щоб стежити за показниками реагентів, що постачаються. Для встановлення тенденцій слід застосовувати відповідні статистичні методи. Індивідуальна лабораторія повинна встановити допустимі межі ефективності аналізу. Інші параметри, за якими слід стежити, включають перехоплення 80, 50 та 20% стандартної кривої відтворюваності циклу до запуску. Крім того, максимальне поглинання повинно відповідати минулому досвіду. Значне відхилення від встановлених показників може свідчити про непомітну зміну експериментальних умов або погіршення стану реагентів. Свіжі реактиви слід використовувати для визначення причини змін.

## 8. Результати

### 8.1 Середнє поглинання

Обчисліть середнє значення поглинання ( $E_m$ ) для кожної точки стандартної кривої (Стд. А-Е) та кожного зразка.

### 8.2 Стандартна крива

Побудуйте графік середнього значення поглинання ( $E_m$ ) стандартів (Стд. А-Е) щодо концентрації. Накресліть найбільш підходящу криву через намічені точки. (es: чотирипараметрична логістика).

### 8.3 Розрахунок результатів

Інтерполюйте значення зразків на стандартній кривій, щоб отримати відповідні значення концентрацій, виражені в нг / мл.

## 8. Референтні значення

Оскільки значення слинного ДГЕА-С мають циркадний ритм, ми пропонуємо взяти зразки в ту ж годину (8:00). Наступні значення можна використовувати як попереднє керівництво, поки кожна лабораторія не встановить свій власний нормальний діапазон.

	нг/мл
жінка	0.2 – 2.5
чоловік	0.2 – 2.7

Будь ласка, зверніть увагу на той факт, що визначення діапазону очікуваних значень для «нормальної» сукупності за даним методом залежить від багатьох факторів, таких як специфічність та чутливість використовуваного методу та тип популяції, що досліджується. Тому кожна лабораторія повинна розглядати діапазон, наданий виробником, як загальне показання та виробляти свій власний діапазон очікуваних значень на основі корінного населення, де лабораторія працює.

## 10. Ефективність та характеристики

### 10.1 Точність

#### 10.1.1 Варіація в аналізі

Варіації в межах циклу визначали шляхом повторних вимірювань (14х) двох різних контрольних сироваток в одному аналізі. Варіабельність в аналізі становить  $\leq 7,8\%$ .

#### 10.1.2 Варіація між аналізами

Варіації між циклами визначали шляхом повторних вимірювань (9х) трьох різних контрольних сироваток з різними партіями набору. Варіабельність між аналізами  $\leq 14,9\%$ .

### 10.2 Точність

Відновлення 0,5 - 1,5 - 6,0 нг / мл ДГЕА-С, доданого до зразка, дало середнє значення ( $\pm$  СВ)  $108,86\% \pm 3,27\%$  з урахуванням вихідних концентрацій.

### 10.3 Чутливість

Найнижча визначена концентрація ДГЕА-С, яку можна відрізнити від стандарту А, становить 0,05 нг / мл при 95% межі довіри.

### 10.4 Специфічність

Перехресна реакція антитіла, розрахована на 50% за Авраамом, наведена в таблиці:

ДГЕА-С	90 %
ДГЕА	100 %
Андростерон-S-Na	48 %
Андростендіон	20 %
Етіоколанон-S-Na	0.2 %
5-андростендіон	0.01 %
тестостерон	0.01 %
прогестерон	0.01 %
17 ОН прогестерон	0.01 %
естрон	0.01 %
кортизол	0.001 %
холестерол	0.001 %

### 10.5. Кореляція

Імунний аналіз слини ДГЕА-С порівнювали з аналогічним комерційно доступним набором. 31 пробу слини аналізували відповідно до обох тест-систем. Розраховано криву лінійної регресії:  $y = 0,37x + 1,10$   $r^2 = 0,826$   $y =$  ІФА слини ДГЕА-С,  $x =$  Набір саліметрій слини ДГЕА-С.

## 11. Поводження з відходами

Реагенти слід утилізувати відповідно до місцевих норм.

## 7. ЛІТЕРАТУРА

1. Joshi, U. M., et al. Steroids 34 (1) 35 (1979)
2. Turkes, A., et al. J Endocrinol. 81 (2) P165 (1979)
3. Ismail A.A, et al. J.Clin.Endocr.Metab. 34,177-184 (1972)
4. Rajkowski,K.M, et al. Steroids 29 no 5 (1977)
5. Widsdom G.B. Clin. Chem. 22/8, 1243 - 1255 (1976)
6. Abraham G.E, et al. Obstet.Gynecol.,47(4),395 (1976)
7. Abraham G.E, et al. Obstet. Gynecol.,53(1),111 (1979)
8. Hopper B.R, et al. J.Clin.Endoc.Metab.40(3),458 (1975)
9. Winter J.S.D,et al. Clin.Obste.and Gynec.,21(1),67 (1978)
10. D. Riad et al. Endocr. Reviews, 3 (4) 304 367 (1978)

## 13. Вирішення проблем

### Помилки / Можливі причини / Пропозиції

#### Відсутність колориметричної реакції

- відсутня кон'югатна піпетка – забруднення кон'югатів та / або субстрату
- помилки під час проведення аналізу (наприклад, випадкове піпетування реагентів у неправильній послідовності або з неправильного флакона тощо)

#### Занадто низька реакція (занадто низькі ОД)

- неправильний кон'югат (наприклад, не з оригінального набору)
- час інкубації занадто короткий, температура інкубації занадто низька

#### Занадто висока реакція (занадто високі ОД)

- неправильний кон'югат (наприклад, не з оригінального набору)
- занадто довгий час інкубації, занадто висока температура інкубації
- недостатня якість води для буфера для промивання (низький ступінь дейонізації)
- недостатнє миття (кон'югати неправильно видаляються)

#### Незрозумілі викиди

- забруднення піпеток, наконечників або контейнерів
- недостатнє миття (кон'югати неправильно видаляються)


#### занадто високий показник CV в аналізі

- Реагенти та / або стріпи, не нагріті попередньо до кімнатної температури перед використанням
- вошер планшетів не миє належним чином (пропозиція: почистити головку вошера)

#### занадто високий% CV між аналізами

- умови інкубації непостійні (час, температура)
- контролі та зразки, що не видаються одночасно (з однаковими інтервалами) (перевірити порядок піпетування)
- пов'язана з людиною варіація

### ПОЗНАЧЕННЯ:

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо для <n> тестів
 Термін придатності	 Номер партії	 Тільки для in-vitro діагностики!
 Використовуйте інструкцію	 Вміст	 CE маркування
 Попередження	 Каталожний №	





