



TESTOSTERONE ТЕСТОСТЕРОН

ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА НИВАТА НА ТЕСТОСТЕРОН В СЕРУМ

ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Нивото на тестостерон се изчислява въз основа на измерената спектрофотометрично при 450 nm абсорбция на получения при реакцията цвят.

РЕАГЕНТИ

1. Coated Microtiter, 96 Wells
2. Reference Standards: 0, 0.1, 0.5, 2.0, 6.0, 18 ng/ml, течни, готови за употреба, 0.5 ml всеки
3. Rabbit Anti-Testosterone Reagent, 7 ml (розов цвят)
4. Testosterone-HRP Conjugate Reagent, 12 ml (син цвят)
5. Testosterone Control 1, 0.5 ml, течен, готов за употреба
6. Testosterone Control 2, 0.5 ml, течен, готов за употреба
7. TMB Reagent 11 ml, готов за употреба
8. Stop solution (1N HCl), 11 ml.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА ТЕСТА

Неотворените тестове трябва да се съхраняват при 2-8°C, с торбички поглъщащи влагата, за да се сведе до минимум излагането на влажен въздух. Отворените тестове остават стабилни до изтичане на срока на годност, ако се прибират в хладилник веднага след употреба и се съхраняват както е описано по-горе. Тестовите могат да се използват на апарат с ширина на честотната лента 10 nm или по-малка, оптична плътност 0-3 OD или повече при 450 nm дължина на вълната.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Внимание: Този тест съдържа човешки материал. Източникът на този материал е тестван отрицателен за HbsAg, HIV1/2 и HCV, но никой наличен метод не може да гарантира напълно отсъствието им. Следователно третирайте всички кръвни продукти и проби като потенциално заразни. Спазвайте националните разпоредби за работа с биологично опасни материали.
2. Не използвайте реактивите след изтичане на срока на годност и не смесвайте компоненти от кутии с различен партиден номер.
3. Не използвайте реактива, ако е станал замърсен и мътен.
4. Не използвайте ереактива, ако шишенцето е пукнато или повредено.
5. Веднага поставйте капачките и не разменяйте капачките на различни шишенца.
6. Всяка ямка може да се използва само веднъж.
7. Не пипетирайте с уста.
8. Разтвори съдържащи добавки или консерванти, например натриев азид не трябва да се използват при ензимни реакции.
9. Избягвайте контакт с 1N HCl – може да причини дразнене или изгаряне на кожата. В случай на контакт измийте обилно с вода и потърсете лекарска помощ, ако дразненето продължи.
10. Само за ин витро диагностична употреба.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Не е необходима специална предварителна обработка на пробата. Ако тестът няма да се извърши непосредствено след вземане на пробата, поставете серума при 2-8 °C до 24 часа или замразете при -20 °C или по-ниска температура за по-дълги периоди на съхранение. Не използвайте силно хемолизирани или силно липемични проби. Не използвайте проби, съдържащи натриев азид.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

1. Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура преди употреба.
2. Завъртете леко шишенцата за да се размесят. Не предизвиквайте разпенване.
3. Проби с очакване концентрация на тестостерон над 18 ng/ml трябва да се разреждат предварително.

БЕЛЕЖКИ ПО ПРОЦЕДУРАТА

1. Мануално пипетиране: Препоръчва се да не изследвате едновременно повече от 32 ямки. Пипетирането на всички стандарти, проби и контроли трябва да се извърши в рамките на 3 минути.
2. Автоматично пипетиране: Може да се пусне цяла плака с 96 ямки наведнъж. Но се препоръчва пипетирането на всички стандарти, проби и контроли да се извърши в рамките на 3 минути.
3. Всички стандарти, проби и контроли, които се пускат в дублиращо измерване трябва да се пускат едновременно, за да са поставени при еднакви условия.
4. Препоръчва се всички ямки да бъдат отчетени до 15 минути след досбяването на Stop Solution.

ПРОЦЕДУРА

1. Поставете желаните брой ямки в носача.
2. Пипетирайте 10µl от стандартите, контролите и пробите в съответните ямки.
3. Пипетирайте 100µl Testosterone-HRP Conjugate Reagent във всяка ямка.
4. Пипетирайте 50µl Rabbit Anti-Testosterone Reagent във всяка ямка. Завъртете плаката с ямките леко в продължение на 30 секунди, за да се размесят добре. *Пълното размесване на пипетираните компоненти е много важно.*
5. Инкубирайте при 37 °C 90 минути. *Забележка: Ямките трябва да стоят в хоризонтална позиция по време на инкубирането.*
6. Измийте ямките 5 пъти с дестилирана или дейонизирана вода, като преди всяко миене изтръсквате плаката, за да се изпразни добре. Изступайте рязко ямките върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
7. Пипетирайте по 100µl TMB Reagent във всяка ямка. Леко разклатете ямките в продължение на 5 секунди.
8. Инкубирайте при стайна температура 20 минути.
9. Спрете реакцията като добавите по 100µl Stop Solution във всяка ямка.
10. Леко разклатете в продължение на 30 секунди. *Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.*
11. Отчетете абсорбцията при 450 nm с ELISA апарат до 15 минути.

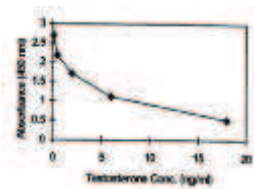
ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средната абсорбция (A_{450}) за всеки комплект референтни стандарти, контроли и проби на пациенти.
2. Конструирайте стандартна крива въз основа на средната абсорбция спрямо съответната концентрация на стандартите, като стойностите на абсорбцията се нанасят по вертикалната (y) ос, а на концентрациите – по хоризонталната (x) ос.
3. Използвайте средната стойност на абсорбцията за всяка проба, за да определите съответната концентрация на тестостерон в ng/ml от стандартната крива.
4. Стойностите, получени от разреждени проби трябва да се конвертират като се умножат по съответния фактор на разреждане.

ПРИМЕР ЗА СТАНДАРТНА КРИВА:

Дадената като пример стандартна крива може да служи само като илюстрация и не трябва да се използва при изчисление на неизвестни проби. Всяка лаборатория трябва да получи свои собствени данни и стандартна крива.

Testosterone(ng/ml)	A_{450}
0	2.432
0.1	1.750
0.5	1.161
2.0	0.832
6.0	0.537
18.0	0.208



ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ

Всяка лаборатория трябва да установи собствени обхвати от нормални стойности. Дадените стойности могат да служат само като ориентир.

Мъже: 3.0 – 10.0 ng/ml

Деца преди пубертет (късен): 0.1 – 0.2 ng/ml

Жени:

фоликуларна фаза 0.2 – 0.8 ng/ml

лутеална фаза 0.2 – 0.8 ng/ml

след менопауза 0.08 – 0.35 ng/ml

Минималната концентрация, която настоящият тест може да открие е 0.05 ng/ml.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

1. Надеждни и възпроизводими резултати ще се получат ако описаната процедура е напълно разбрана и правилно изпълнена.
2. Процедурата с миенето е от критично значение. Недостатъчно доброто измиване ще повлияе на точността и ще доведе до фалшиво високи стойности на абсорбцията.
3. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
4. Резултатите от теста трябва да се използват само като една съставна част от диагностичната процедура, при която лекарят трябва да вземе пред вид цялата налична информация.

Re:030104