

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»
Е.Н. Схолль-Энгбертс
05 2017 г.



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОН-СУЛЬФАТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
«ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С) в сыворотке крови человека «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для количественного *in vitro* определения концентрации ДГЭА-С в сыворотке крови человека.

Набор «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для лабораторной *in vitro* диагностики. Набор должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в области лабораторной диагностики.

1.2. ДГЭА-С - стероидный гормон с молекулярной массой 368,4 Да. Синтез ДГЭА и ДГЭА-С происходит в надпочечниках, и только небольшая его часть (около 8–10 %) образуется гонадами. Кроме стероидсекретирующих желез, ДГЭА-С синтезируется *de novo* и метаболизируется в мозге, поэтому его относят к нейростероидам. ДГЭА-С циркулирует в периферической крови в самой высокой концентрации из всего спектра стероидов, включая кортизол. Концентрация ДГЭА-С в крови у здоровых мужчин превышает содержание тестостерона в 200–1000 раз, а у женщин его содержание в 5000–25 000 раз больше, чем 17-β-эстрадиола. У мужчин в возрасте 25–30 лет его уровень в крови достигает максимума, в дальнейшем продукция стероида падает и к 80 годам его содержание уменьшается

более чем в 5 раз. Наиболее высокая скорость падения концентрации ДГЭА и ДГЭАС приходится на возраст от 50 до 60 лет.

Для ДГЭА-С характерны половые различия: у женщин его концентрация на 15–20 % ниже, чем у мужчин, одинаковых по возрасту. Вместе с тем возрастное падение продукции ДГЭА-С у женщин имеет такую же закономерность, как и у мужчин.

Метаболический клиренс сульфатной формы стероида достигает 15 л/день, суточная продукция его в активном репродуктивном возрасте – 25–30 мг. Содержание ДГЭА-С на протяжении суток не претерпевает существенных колебаний, что позволяет использовать ДГЭА-С в качестве маркера для оценки секреторной функции надпочечников.

1.3. ДГЭА-С может использоваться при дифференциальной диагностике синдрома Кушинга, а так же при диагностике заболеваний надпочечников, таких как врожденная гиперплазия и опухоли надпочечников. У пациенток с гирсутизмом повышенные концентрации ДГЭА-С часто связаны с вирилизирующими опухолями надпочечников. У пациенток с поликистозом яичников часто так же отмечаются повышенные концентрации ДГЭА-С, что говорит о влиянии андрогенов надпочечников на данное заболевание. Если у женщины наблюдается повышенный уровень тестостерона, то с помощью определения концентрации ДГЭА-С можно установить, связано это с заболеванием надпочечников или яичников.

У мужчин опухоли, продуцирующие ХГч, могут вызывать повышение концентрации ДГЭА-С, вырабатываемого яичками.

1.4. Набор «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 неизвестных, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора тетраметилбензида (ТМБ) при использовании всех стрипов одновременно. Всего – 96 определений.

В случае дробного применения необходима обязательная постановка всех калибровочных проб для каждого отдельного анализа.

1.5. Производитель набора – Акционерное общество «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (АО «Витал Девеломпент Корпорэйшн»), Россия, 194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56 лит. А, тел/факс (812) 326-61-98.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

В наборе «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» использована технология количественного конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта на внутренней поверхности лунок микропланшетов иммобилизованы биотинилированные моноклональные антитела к ДГЭА-С. При добавлении исследуемых образцов и конъюгата ДГЭА-С-пероксидаза происходит конкуренция между эндогенным ДГЭА-С, содержащимся в исследуемых образцах, и конъюгатом ДГЭА-С-пероксидаза за связывание с моноклональными антителами до установления равновесия.

По окончании инкубации во время промывки происходит удаление всех несвязавшихся компонентов из зоны реакции.

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание в синий цвет раствора в лунках. Степень окраски обратно пропорциональна концентрации ДГЭА-С в анализируемых образцах.

Реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент (при этом цвет раствора меняется с синего на желтый). Измеряют оптическую плотность раствора в лунках и проводят расчет концентрации ДГЭА-С в исследуемых образцах и контрольных материалах по калибровочному графику.

Калибровочный график строится на основании результатов анализа калибровочных проб, участвующих в анализе одновременно с исследуемыми образцами.

Набор «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» предназначен для использования на спектрофотометрах, автоматических и полуавтоматических иммуноферментных анализаторах, позволяющих проводить измерение оптической плотности в лунках при длине волны 450 нм и проводить вычисление результатов измерений с использованием аппроксимации калибровочной кривой методами 4-PL или кубический сплайн, а так же в Logit-Log координатах. Для постановки анализа требуется орбитальный термостатируемый шейкер, позволяющий проводить инкубацию при +37С и постоянным встряхиванием со скоростью 500-800 оборотов в минуту. Промывка лунок планшета может производиться ручным методом или с использованием автоматических промывающих устройств.

3. СОСТАВ НАБОРА.

3.1. Комплект 1.

МИКРОПЛАНШЕТ С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ К ДГЭА-С

1 упаковка

Разборный полистирольный микропланшет со стрипами, разделяемыми на отдельные лунки, с иммобилизованными мышиными моноклональными антителами к ДГЭА-С, маркирован «Микропланшет с моноклональными антителами к ДГЭА-С».

КАЛИБРОВОЧНЫЕ ПРОБЫ (КП)

комплект

Лиофилизированные или жидкости

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» производит внутренние референсные стандарты с использованием референсного стандарта ДГЭА-С (производство Cerilliant Corporation, США). Калибровочные пробы изготавливаются гравиметрическим методом и тестируются относительно этих внутренних референсных стандартов.

КП№1- 1 флакон, 0,5 мл, содержит 0 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №1».

КП№2- 1 флакон, 0,5 мл, содержит 0,15 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №2».

КП№3- 1 флакон, 0,5 мл, содержит 0,75 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №3».

КП№4- 1 флакон, 0,5 мл, содержит 1,5 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №4».

КП№5- 1 флакон, 0,5 мл, содержит 5 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №5».

КП№6- 1 флакон, 0,5 мл, содержит 15 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №6».

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА уровень 1 (КС 1)

1 флакон. 0.5 мл

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА уровень 2 (КС 2)

1 флакон. 0.5 мл

Лиофилизированные или жидкости..

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» производит контрольные сыворотки с использованием референсного стандарта ДГЭА-С (производство Cerilliant Corporation, США).

Маркированы «Контрольная сыворотка 1», «Контрольная сыворотка 2» содержит известное количество ДГЭА-С, диапазон концентраций указан на этикетке флакона.

ПРИМЕЧАНИЕ: точные номиналы калибровочных проб и диапазон контрольных сывороток указаны на этикетках флаконов и в паспорте к набору реагентов.

КОНЬЮГАТ

1 флакон, 14 мл

Конъюгат ДГЭА-С с пероксидазой, маркирован «Конъюгат».

БУФЕР П

1 флакон, 20 мл

Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок (20-кратный концентрат), маркирован «Буфер П».

РАСТВОР ТМБ

1 флакон, 14 мл

Раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ».

СТОП-РЕАГЕНТ

1 флакон, 14 мл

1М соляная кислота (HCl), маркирован «Стоп-реагент».

Принадлежности:

- пакет полиэтиленовый закрывающийся – 1 штука;
- пленка для заклеивания микропланшета – 1 штука.

3.2. Комплект 2.

МИКРОПЛАНШЕТ С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ К ДГЭА-С

1 упаковка

Разборный полистирольный микропланшет со стрипами, разделяемыми на отдельные лунки, с иммобилизованными мышинными моноклональными антителами к ДГЭА-С, маркирован «Микропланшет с моноклональными антителами к ДГЭА-С».

КАЛИБРОВОЧНЫЕ ПРОБЫ (КП)

комплект

Лиофилизированные или жидкости

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» производит внутренние референсные стандарты с использованием референсного стандарта ДГЭА-С (производство Cerilliant Corporation, США). Калибровочные пробы изготавливаются гравиметрическим методом и тестируются относительно этих внутренних референсных стандартов.

КП№1- 1 флакон, 0,7 мл, содержит 0 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №1».

КП№2- 1 флакон, 0,7 мл, содержит 0,15 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №2».

КП№3- 1 флакон, 0,7 мл, содержит 0,75 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №3».

КП№4- 1 флакон, 0,7 мл, содержит 1,5 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №4».

КП№5- 1 флакон, 0,7 мл, содержит 5 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №5».

КП№6- 1 флакон, 0,7 мл, содержит 15 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №6».

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА уровень 1 (КС 1) **1 флакон. 0.7 мл**

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА уровень 2 (КС 2) **1 флакон. 0.7 мл**

Лиофилизированные или жидкости.

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» производит контрольные сыворотки с использованием референсного стандарта ДГЭА-С (производство Cerilliant Corporation, США).

Маркированы «Контрольная сыворотка 1», «Контрольная сыворотка 2» содержит известное количество ДГЭА-С, диапазон концентраций указан на этикетке флакона.

ПРИМЕЧАНИЕ: точные номиналы калибровочных проб и диапазон контрольных сывороток указаны на этикетках флаконов и в паспорте к набору реагентов.

КОНЪЮГАТ **1 флакон. 14 мл**

Конъюгат ДГЭА-С с пероксидазой, маркирован «Конъюгат».

БУФЕР П **1 флакон. 20 мл**

Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок (20-кратный концентрат), маркирован «Буфер П».

РАСТВОР ТМБ **1 флакон. 14 мл**

Раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ».

СТОП-РЕАГЕНТ **1 флакон. 14 мл**

1М соляная кислота (HCl), маркирован «Стоп-реагент».

Принадлежности:

- пакет полиэтиленовый закрывающийся – 1 штука;
- пленка для заклеивания микропланшета – 1 штука.

3.3. Комплект 3.

МИКРОПЛАНШЕТ С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ К ДГЭА-С
1 упаковка

Разборный полистирольный микропланшет со стрипами, разделяемыми на отдельные лунки, с иммобилизованными мышинными моноклональными антителами к ДГЭА-С, маркирован «Микропланшет с моноклональными антителами к ДГЭА-С».

КАЛИБРОВОЧНЫЕ ПРОБЫ (КП)

комплект

Лиофилизированные или жидкости

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» производит внутренние референсные стандарты с использованием референсного стандарта ДГЭА-С (производство Cerilliant Corporation, США). Калибровочные пробы изготавливаются гравиметрическим методом и тестируются относительно этих внутренних референсных стандартов.

КП№1- 1 флакон, 1,0 мл, содержит 0 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №1».

КП№2- 1 флакон, 1,0 мл, содержит 0,15 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №2».

КП№3- 1 флакон, 1,0 мл, содержит 0,75 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №3».

КП№4- 1 флакон, 1,0 мл, содержит 1,5 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №4».

КП№5- 1 флакон, 1,0 мл, содержит 5 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №5».

КП№6- 1 флакон, 1,0 мл, содержит 15 мкг/мл ДГЭА-С, маркирован «Калибровочная проба №6».

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА уровень 1 (КС 1)

1 флакон. 1.0 мл

КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА уровень 2 (КС 2)

1 флакон. 1.0 мл

Лиофилизированные или жидкости.

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» производит контрольные сыворотки с использованием референсного стандарта ДГЭА-С (производство Cerilliant Corporation, США).

Маркированы «Контрольная сыворотка 1», «Контрольная сыворотка 2» содержит известное количество ДГЭА-С, диапазон концентраций указан на этикетке флакона.

ПРИМЕЧАНИЕ: точные номиналы калибровочных проб и диапазон контрольных сывороток указаны на этикетках флаконов и в паспорте к набору реагентов.

КОНЬЮГАТ

1 флакон. 14 мл

Конъюгат ДГЭА-С с пероксидазой, маркирован «Конъюгат».

БУФЕР П

1 флакон. 20 мл

Концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок (20-кратный концентрат), маркирован «Буфер П».

РАСТВОР ТМБ

1 флакон, 14 мл

Раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ».

СТОП-РЕАГЕНТ

1 флакон, 14 мл

1М соляная кислота (HCl), маркирован «Стоп-реагент».

Принадлежности:

- пакет полиэтиленовый закрывающийся – 1 штука;
- пленка для заклеивания микропланшета – 1 штука.

3.4. Описание принадлежностей.

Во все комплекты входят принадлежности:

- пакет полиэтиленовый закрывающийся (1 штука) – пакет прозрачный с замком из пленки полиэтиленовой (ГОСТ 10354-82), предназначенный для хранения микропланшета с моноклональными антителами к ДГЭА-С в случае дробного использования планшета;
- пленка для заклеивания микропланшета (1 штука) – прозрачная целлюлозная пленка на липкой основе (ГОСТ 7730-89), предназначенная для заклеивания микропланшета при проведении инкубации при комнатной температуре или при 37°C в термостате для предотвращения испарения в результате неравномерного нагрева и для защиты от загрязнения.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.

4.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация ДГЭА-С в сыворотке крови человека не превышает 0,03 мкг/мл.

4.2. Специфичность. Перекрестные реакции моноклональных антител к ДГЭА-С с другими стероидами приведены в Таблице 1.

Таблица 1.

СТЕРОИД	Перекрестная реактивность, %
ДГЭА-С	100
ДГЭА	10
Кортизол	<0.01
Альдостерон	<0.01
Эстрадиол	<0.01
Тестостерон	<0.01
5-дигидротестостерон	<0.01
Андростендион	<0.01
Андростерон	0,021

Эстриол	<0.01
Эстрон	<0.01
19-ОН-андростендион	0,025
Прогестерон	<0.01
Эстрон-3-сульфат	0,065
ДГЭА-глюкуронид	<0.01
Андростендиол-глюкуронид	<0.01

4.3. Линейность. Зависимость концентрации ДГЭА-С в образцах сыворотки крови при разведении «Калибровочной пробой №1», имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб № 2 – № 6 и составляет 90-110%.

4.4. Коэффициент вариации результатов определения ДГЭА-С в одном и том же образце с использованием набора «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» не превышает 8%.

4.5. Точность. Соответствие измеренной концентрации ДГЭА-С в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы № 4, составляет 90–110%.

4.6. Нормальные значения. Нормальные значения ДГЭА-С в зависимости от возраста и пола приведены в таблице:

	Концентрация ДГЭА-С, мкг/мл
	Диапазон
Мужчины:	
До 45 лет:	1,37 – 4,75
После 45 лет:	0,4 – 3,6
Женщины:	
До 45 лет:	1,04 – 4,5
После 45 лет:	0,2 – 2,8
Беременные:	0,3 – 4,6

4.7. Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» (точность, чувствительность, воспроизводимость результатов измерения), установлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.2-2008.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

5.1. Реагенты, входящие в состав набора, предназначены исключительно для лабораторной *in vitro* диагностики, набор должен

применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в области лабораторной диагностики.

5.2. Потенциальный риск применения набора — класс 2а.

5.3. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

5.4. Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

5.5. Стоп-реагент представляет собой 1 М раствор соляной кислоты и обладает раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

5.6. В учреждениях, в которых осуществляется работа с наборами реагентов, следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5.7. Несмотря на то, что производные крови человека, входящие в состав наборов, были проверены на наличие антител к ВИЧ 1 и 2 типа, вирусу гепатита С, а также HBsAg и дали отрицательный результат, необходимо с калибраторами, контрольными материалами обращаться как с образцами, несущими инфекционную опасность, так как ни один существующий метод тестирования не может на 100% гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

5.8. При работе с исследуемыми образцами пациентов следует соблюдать меры предосторожности как в отношении инфекционно опасного материала. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. в состав набора входят производные крови, которые являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций, а также использовать другие меры защиты, позволяющие снизить риск инфицирования

5.9. Все материалы, контактировавшие с образцами крови пациентов, контрольными и калибровочными материалами должны быть инактивированы официально регламентированными методами (автоклавированием в течение 1 часа при 121°C, замачиванием в 5%

растворе хлорамина Б в течение 1 часа или обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо иным лабораторным дезинфицирующим средством). Жидкие отходы, включая промывочные воды, должны быть инаktivированы добавлением сухого хлорамина Б из расчета 50 г/л в течение 2 часов, либо обработкой в соответствии с инструкцией каким-либо иным лабораторным дезинфицирующим средством.

5.10. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

5.11. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами реагентов.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Одно- или многоканальные дозаторы с изменяемым объемом отбора жидкостей в диапазонах 10 – 100 мкл, 50 – 300 мкл для постановки анализа и в диапазонах 100 – 1000 мкл, 1000 – 5000 мкл, 1000 – 10000 мкл для приготовления реагентов.
- Одноразовые сменные наконечники для дозаторов.
- Ванночки для реактивов для многоканального дозатора.
- Термостатируемый шейкер, позволяющий производить встряхивание при температуре +37°C со скоростью 400 - 650 об/мин.
- Спектрофотометр, позволяющий производить измерение оптической плотности раствора в лунках при 450 нм.
- Автоматический промыватель для планшетов или дозирующее устройство.
- Фильтровальная бумага.
- Цилиндр мерный на 200 мл.
- Стакан стеклянный вместимостью 500 мл.
- Вода деионизованная или дистиллированная.
- Перчатки резиновые или пластиковые.

7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.

7.1. Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови, а

образцы сыворотки должны быть освобождены от клеток крови центрифугированием. После центрифугирования сыворотка крови должна быть перенесена в отдельную пробирку.

7.2. Следует избегать использования в анализе плазмы крови, гемолизированной, мутной или гиперлипемичной сыворотки.

7.3. Не допускается использование в качестве консерванта азидата натрия.

7.4. Образцы сыворотки крови следует использовать в течение 24 часов с момента получения при условии их хранения при $+2...8^{\circ}\text{C}$. Если тестирование откладывается более чем на 24 часа, сыворотку следует отделить от сгустка и хранить при $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более 5 суток. Для более длительного хранения образцы необходимо заморозить при температуре ниже -20°C . Избегать повторного замораживания образцов. Транспортировка образцов при необходимости должна производиться при соблюдении температурного режима хранения с использованием термоконтейнеров и холодоэлементов.

8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

8.1. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры ($+18...25^{\circ}\text{C}$).

8.2. Микропланшет. Перед вскрытием пакет необходимо выдержать при комнатной температуре ($+18...25^{\circ}\text{C}$) не менее 30 минут во избежание конденсации влаги на поверхности лунок. Открыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов или лунок. Оставшиеся стрипы хранить в пакете с герметично закрытым замком при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности.

8.3. Калибровочные пробы и контрольная сыворотка.

Перед вскрытием флаконов с *лиофилизированными калибровочными пробами* и контрольными сыворотками стряхнуть частицы лиофилизованного порошка, прилипшие к стенкам флаконов и крышкам. Аккуратно открыть флаконы и положить пробки перевернутыми на сухую поверхность. В каждый флакон внести требуемый объем деионизованной воды:

- 0,5 мл – для комплекта №1;
- 0,7 мл – для комплекта №2;

- 1,0 мл – для комплекта №3.

Закрыть флаконы крышками и выдержать в течение 10 минут при комнатной температуре (18°C...25°C) без перемешивания. Затем перемешать содержимое флаконов, аккуратно наклоняя и вращая их, избегая пенообразования. Выдержать флаконы еще 10 минут при периодическом перемешивании.

Жидкие калибровочные пробы и контрольные сыворотки готовы к использованию.

8.4. Буфер П. Необходимое количество промывочного буфера развести дистиллированной водой в 20 раз.

Например:

10 мл Буфера П + 190 мл деионизованной или дистиллированной воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования. Готовый к использованию Буфер П хранить закрытым при комнатной температуре (+18...25°C) не более 5 суток. Оставшийся неиспользованным 20-кратный Буфер П хранить закрытым при температуре +2...8°C в течение всего срока годности

8.5. Конъюгат ДГЭА-С-пероксидаза готов к использованию.

8.6. Раствор ТМБ готов к использованию.

8.7. Стоп-реагент готов к использованию.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1. Составить протокол маркировки лунок. Лунки промаркировать следующим образом:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	КП1	КП1	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33
B	КП2	КП2	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34
C	КП3	КП3	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35
D	КП4	КП4	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36
E	КП5	КП5	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37
F	КП6	КП6	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
G	КС I	КС I	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
H	КС II	КС II	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40

Рекомендуется оставлять 2 лунки для контроля оптической плотности (ОП) раствора ТМБ. Постановка Контрольной сыворотки 2 в случае контроля ОП ТМБ не является обязательной, но повышает контроль достоверности получаемых результатов.

9.2. Внести в соответствующие лунки по 20 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки по 20 мкл исследуемой сыворотки крови в дубликатах. *Общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов не должно превышать 20 минут во избежание получения неправильных результатов исследования.*

9.3. Во все лунки внести по 100 мкл конъюгата ДГЭА-С-пероксидаза (в лунки для контроля ОП ТМБ конъюгат не вносить!)

9.4. Инкубировать стрипы при встряхивании в течение 60 минут в термостатируемом шейкере при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ со скоростью 500 – 800 об/мин. Данные условия инкубации являются рекомендуемыми для получения стабильных результатов.

При отсутствии в лаборатории шейкера возможно проведение инкубации при комнатной температуре ($+18...25^{\circ}\text{C}$), либо в термостате при $+37^{\circ}\text{C}$ так же в течение 60 минут при условии обязательного заклеивания микропланшета пленкой, входящей в состав набора.

9.5. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в специальную емкость для сбора инфицированного материала и промыть лунки четыре раза. При каждой промывке во все лунки добавить по 300 мкл Буфера П, приготовленного по п. 8.4, с последующим удалением жидкости в емкость для инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге до исчезновения следов наличия жидкости в лунках стрипов.

9.6. Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать стрипы в темноте при комнатной температуре ($+18...25^{\circ}\text{C}$) в течение 15–30 минут в зависимости от степени развития окраски, либо в течение 7 минут при $+37^{\circ}\text{C}$ в термостатируемом шейкере при 500-800 об/мин.

9.7. Остановить ферментную реакцию добавлением в каждую лунку по 100 мкл стоп-реактанта. Цвет реакционной смеси в лунках

должен измениться с синего на желтый. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 минут.

Схема проведения анализа приведена на **Рисунке 1**.

10. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.

10.1. Измерить на фотометре вертикального сканирования ОП раствора в лунках при длине волны 450 нм.

10.2. Определить среднее значение ОП в лунках с контролем ТМБ и вычесть его из среднего значения ОП калибровочных проб, контрольных сывороток и анализируемых образцов.

11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ.

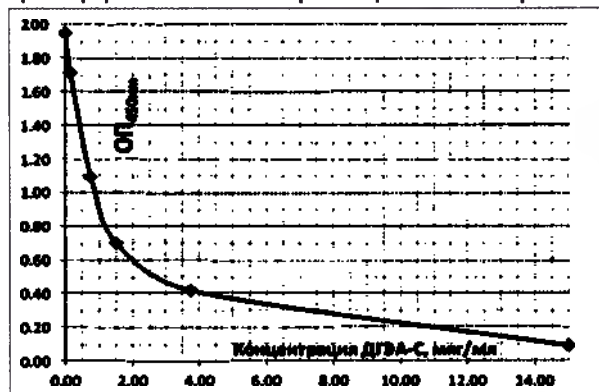
11.1. Результаты анализа следует учитывать, если среднее значение ОП ТМБ не превышает 0,1 ед.ОП.

11.2. В линейных координатах построить график зависимости оптических плотностей (ед.опт.плотн.) от концентрации ДГЭА-С в калибровочных пробах (мкг/мл), используя средние значения ОП дубликатов.

11.3. При наличии автоматической программы расчета на фотометре в качестве метода аппроксимации калибровочной кривой выбрать метод 4PL, 5PL. Использование метода cubic spline **не рекомендуется**.

11.4. Определить содержание ДГЭА-С в исследуемых образцах и контрольных сыворотках по калибровочному графику, используя среднее значение ОП для дубликатов.

Ниже приведен типичный график зависимости ОП калибровочных проб от концентрации в них ДГЭА-С. Данный график приведен исключительно в целях иллюстрации и не может быть использован для расчета концентрации ДГЭА-С в образцах сывороток пациентов:



12. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АНАЛИЗА.

12.1. При использовании набора для проведения нескольких независимых серий анализов необходимо иметь в виду, что количество независимых экспериментов ограничено объемом калибровочных проб.

12.2. Для каждого независимого эксперимента необходимо построение нового калибровочного графика и определение концентрации аналита в контрольных сыворотках.

12.3. Не допускается использование реагентов разных серий при проведении анализа, а также использование ТМБ, стоп-реагента и промывочного буфера других фирм-производителей.

12.4. После окончания внесения реагентов необходимо плотно закрыть крышки флаконов и поместить их на хранение при температуре +2...8°C.

12.5. При интерпретации результатов исследования следует помнить, что:

- **Повышение уровня ДГЭА-С могут вызывать:** голодание, курение, физическая нагрузка, а так же прием таких препаратов, как даназол, кломифен, кортикотропин.
- **Понижение уровня ДГЭА-С может быть связано с беременностью,** ожирением, физической и психической нагрузкой, депрессией, приемом гестагенов, тестостерона, дексаметазона, преднизолона и других глюкокортикоидов, а так же карбамазепина.

13. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

13.1. Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения ДГЭА-С в сыворотке крови человека «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» должен храниться и транспортироваться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение и транспортировка набора при температуре до +25°C не более 14 суток.

13.2. Срок годности набора — 24 месяца. Не допускается использование набора после истечения срока годности.

В случае дробного использования компоненты набора необходимо после вскрытия хранить следующим образом:

- Микропланшет со стрипами хранить в герметично закрытом пакете с замком при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;
- Конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;
- Жидкие, готовые к использованию калибровочные пробы и контрольные сыворотки после вскрытия флаконов хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;
- Восстановленные из лиофилизированных препаратов калибровочные пробы и контрольные сыворотки после вскрытия флаконов хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ не более 1 месяца. При необходимости хранения в течение срока годности набора – аликвотировать и заморозить при температуре ниже -20°C . **Избегать повторного замораживания.**
- Буфер П и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить при температуре $+2...8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности;
- Буфер П, готовый к использованию, хранить закрытым не более 5 суток при комнатной температуре ($+18...25^{\circ}\text{C}$). Не добавлять в емкость с используемым Буфером П вновь приготовленный раствор.

13.3. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

13.4. Габаритные размеры набора (комплект 1, 2 и 3) - $165 \times 130 \times 100$ мм, вес нетто – 200 ± 5 гр, вес брутто – 300 ± 5 гр.

14. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Б». Утилизация использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Б».

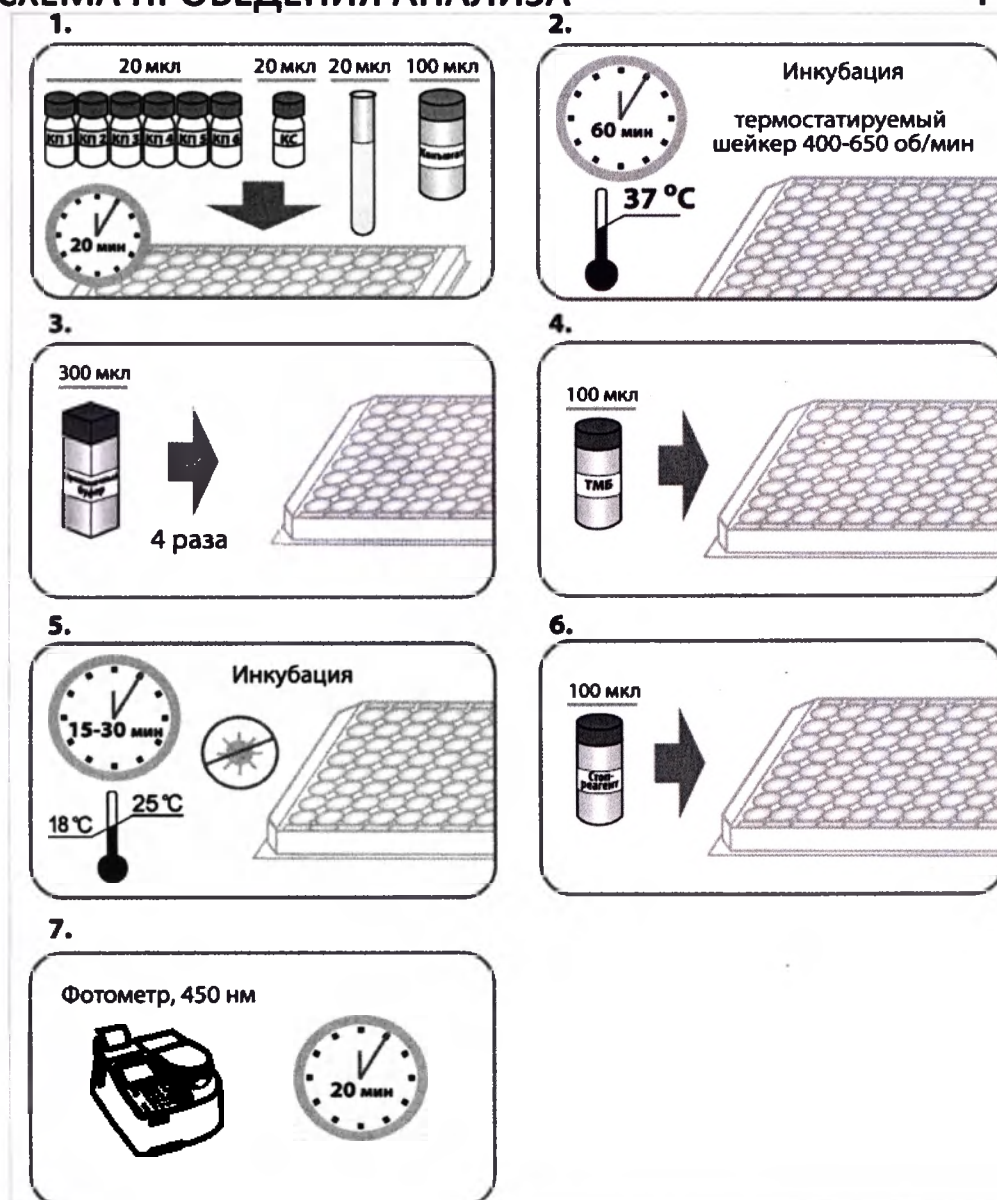
Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

15. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что Набор реагентов для количественного иммуноферментного определения дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С) в сыворотке крови человека «ДГЭА-С-Имаксиз (IMAXYZ)» разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Рисунок 1.



По вопросам качества набора обращаться в компанию-производитель АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу: 194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56 лит. А, тел/факс (812) 326-61-98

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»  Е.Н. Схолль-Энгбертс

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»  П.К. Варнавичус.

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью



Всего

19

листа(ов)

Ген. директор

Сходль-Энгбертс Е.Н.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 19 ЛИСТОВ

2014 год



Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.