

СР	7041/2007
	11.10.2012

Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.

Інструкція
з використання тест-системи
для визначення кортизолу в сироватці крові
Кортизол-ІФА

IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип конкурентного імуноферментного аналізу. У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-кортизол-антитіла) вносять досліджуваний зразок та кон'югат (кортизол, мічений пероксидазою). Кортизол із зразка конкурує з кон'югатом за зв'язок з антигеном на поверхні лунки. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату, та вимірюється при довжині хвилі 450 нм. Інтенсивність кольорової реакції зворотно пропорційна кількості кортизолу в зразку.

Клінічне значення

Кортизол - стероїдний гормон кори надниркових залоз, найбільш активний з глюкокортикоїдних гормонів. Регулятор вуглеводного, білкового та жирового обміну. Кортизол виробляється пучковою зоною кори надниркових залоз під контролем АКТГ. Кортизол метаболізується в печінці, період напіврозпаду гормону становить 80 - 110 хвилин, видаляється з сечею. Гормон грає ключову роль в захисних реакціях організму на стрес. Володіє катаболічною дією. Підвищує концентрацію глюкози в крові за рахунок збільшення її синтезу і зниження утилізації на периферії (антагоніст інсуліну). Зменшує утворення і збільшує розщеплення жирів, сприяючи гіперліпідемії і гіперхолестеринемії. Кортизол має невелику мінералокортикоїдну активність, але при надмірному його вмісті спостерігається затримка натрію в організмі, набряки і гіпокаліємія; формується негативний баланс кальцію. Кортизол потенціює судинозвужувальну дію інших гормонів, збільшує діурез, надає протизапальну дію і зменшує гіперчутливість організму до різних агентів, супресивно діючи на клітинний і гуморальний імунітет. Кортизол стабілізує мембрани лізосом. Сприяє зменшенню кількості зозінофілів і лімфоцитів в крові при одночасному збільшенні нейтрофілів, еритроцитів і тромбоцитів. Характерний добовий ритм секреції: максимум у ранкові години (6 - 8 годин), мінімум - у вечірні (20 - 21 година). Секреція кортизолу мало змінюється з віком. При вагітності спостерігається прогресивне зростання концентрації, пов'язане з підвищенням вмісту транскортину: в пізні терміни вагітності відзначають 2 - 5-кратне підвищення. Може порушуватися добовий ритм виділення цього гормону.

Збільшення рівню кортизола в крові спостерігається при наступних станах: гормонально-активні пухлини кори наднирників, синдром Іщенко-Кушинга, АКТГ-продуцуючої пухлини, серцева недостатність, синдром полікістозних яєчників, цукровий діабет, опіки, гостра біль, електростимуляції, інсулінова кома, інфекційні захворювання, вагітність, естрогенотерапія, хірургічні операції, депресії. Вміст кортизолу також збільшується при прийомі АКТГ, кортикостероїдів, етанолу, нікотину, пероральних контрацептивів.

Зниження рівня кортизолу в крові відмічено при хворобі Аддісона, адреногенітальному синдромі, гіпопітуїтаризмі, вродженої недостатності кори надниркових залоз

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

адреногенітальному синдромі, стані після прийому глюкокортикоїдів, гіпотиреозі, печінковій недостатності, різкому зниженню ваги. Зниження концентрації кортизолу викликає дексаметазон, метірапон, леводопа, етакринова кислота.

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір калібраторів та контролю по 0.4 мл (всього 6 калібраторів: 0, 40, 80, 200, 600, 2000 нмоль/л; 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 мл (1 фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 12 нмоль/л.

Очікуванні коливання контролю: 350-520 нмоль/л.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.

Проведення аналізу

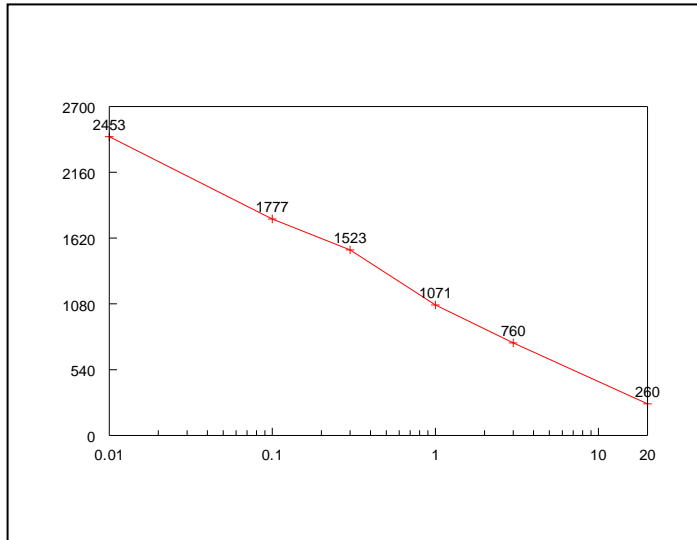
1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 14 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторах.
2. Внесіть у лунки 25 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
3. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте **20-25** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
10. Використовуйте лінійно-логарифмічний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію кортизолу в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Примітка

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **СВОЮ** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні

(«замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, нмоль/л; вісь Y – ОЩ)
Не використовувати для обчислювання!



Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Донори: 140 – 600 нмоль/л.

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°C. Не допускається замороження!

Після розкриття пакета **ретельно заклейте** лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61001, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт
Тест-система для визначення
кортизолу в сироватці крові
Кортизол-ІФА

IN VITRO

Серія **685-3**
Дата виготовлення **13.11.2012**
Термін придатності **13.05.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	Чутливість не менш, нмоль/л	12		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, нмоль/л	350-520		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Набір калібраторів та контролю (всього 6 калібраторів: 0, 40, 80, 200, 600, 2000 нмоль/л; 1 контроль)	синій	7 фл. x 0.4 мл	відповідає
2.4	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. x 22 мл	відповідає
2.5	Кон'югат	червоний	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.6	Субстрат	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.7	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002