



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

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 96 визначень з урахуванням холостих і калібрувальних проб при витраті реактивів відповідно цієї методики.

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип конкурентного імуноферментного аналізу. У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-кортизол-антитіла) вносять досліджуваній 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 nm (nm). 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. 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. Характерний добовий ритм секреції: максимум у ранкові години (6 - 8 h (год)), мінімум - у вечірні (20 - 21 h (год)). 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-продуруючої 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 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 0.5 ml (мл) (всього 6 калібраторів: 0, 40, 80, 200, 600, 2000 pmol/l (нмоль/л); 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 ml (мл) (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 ml (мл) (1 фл.)

6. Субстрат, 11 ml (мл) (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 ml (мл) (1 фл.)
8. Інструкція з використання
9. Паспорт

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 12 pmol/l (нмоль/л).

Очікуванні коливання контролю: 100 – 270 pmol/l (нмоль/л).

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 h (год) при 4-10°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 µl (мкл).

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 nm (нм).

Підготовка реагентів

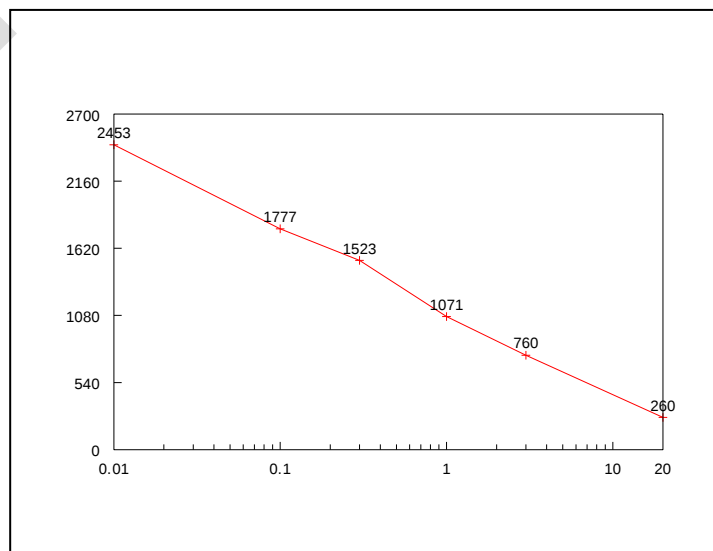
1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 min (хв). До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте у 20 разів дистильованою водою в чистому посуді (1 ml (мл) концентрату + 19 ml (мл) дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 5 d (доб) при кімнатній температурі або 30 d (доб) у холодильнику 4-10°C.

Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 14 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
 2. Внесіть у лунки 25 µl (мкл) калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
 3. Внесіть у лунки 100 µl (мкл) кон'югату.
 4. Інкубуйте 60 min (хв) при температурі 37°C.
 5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
 6. Внесіть у лунки 100 µl (мкл) субстрату.
 7. Інкубуйте 15-25 min (хв) при температурі 20-25°C в темному місці.
 8. Внесіть у лунки 100 µl (мкл) зупиняючого розчину.
- Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 nm (нм).
9. Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
 10. Використовуйте лінійно-логарифмічний метод обчислювання значень.
 11. Визначте концентрацію кортизолу в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, pmol/l (нмоль/л); вісь Y – ОЩ)

Не використовувати для обчислювання!



Примітка

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** 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 μ l (мкл) відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко перегорніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

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 nmol/l (нмоль/л).

Зберігання та стабільність

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, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не допускається заморозження!

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

Символи на продукції



Виробник

Виготовлено: Дата виробництва

Придатно до: Термін придатності

Серія: Номер

серії



Виріб медичний для діагностики in vitro



Консультуйтеся з інструкцією із використання



Берегти від сонячного світла



Знак відповідності Технічним регламентам



Температурне

обмеження



Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів