



2046Z, Estradiol (E2)

## Набор ИФА для количественного определения ЭСТРАДИОЛА в сыворотке или плазме человека

Кат. № : 2046Z  
Количество : 96  
Производитель : DAI (США)

Методика от 10-10-2009

**Внимание:** основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

Анализ	Estradiol (E2) ELISA
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой: нанесенный антиген
Диапазон обнаружения	0-1000 пг/мл
Образец	25 мкл сыворотки
Специфичность	100 %
Чувствительность	10 пг/мл
Общее время	~ 110 мин.
Срок годности	12-14 мес.

### НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения эстрадиола в сыворотке человека.

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Эстрадиол ИФА основывается на принципе конкурентоспособного связывания между эстрадиолом в анализируемом образце и эстрадиол-HRP конъюгатом, в стабильном количестве анти-эстрадиола кролика. В процессе инкубации лунки, покрытые козлиным анти-кроличьим IgG инкубируются при комнатной температуре (18-25°C) в течении 90 минут с 25 мкл стандартов эстрадиола, контролями, образцами пациентов, 100 мкл реагента эстрадиол-HRP конъюгата 50 мкл реагента анти-эстрадиола кролика. В течение инкубации, закрепленное количество HRP-меченого эстрадиола конкурирует с эндогенным эстрадиолом в стандарте, образце, или сыворотке контроля качества на определенных местах связывания специфичного антитела эстрадиола. Таким образом, количество конъюгата пероксидазы эстрадиола, иммунологически связанного с лункой, интенсивно уменьшается, так как концентрация эстрадиола в образце увеличивается. Затем несвязанный конъюгат пероксидазы эстрадиола удаляется и лунки промываются. Затем, добавляется раствор ТМБ реагента и инкубируется при комнатной температуре в течении 20 минут, приводя к образованию синего цвета. Развитие цвета останавливается добавлением стоп раствора, и абсорбция измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Интенсивность образовавшегося цвета пропорциональна количеству присутствующего фермента и противоположна количеству непомяченного эстрадиола в образце. Калибровочная кривая получается путем составления графика концентрации стандарта против меры поглощения света. Концентрация эстрадиола в образцах и контролях, анализируемая одновременно со стандартами может быть рассчитана от калибровочной кривой.

### РЕАГЕНТЫ

#### Поставляемые в наборе материалы:

- Козлиные анти-кроличьи IgG-покрытые микротитровальные лунки, 96 лунок.
- Референтные стандарты эстрадиола: 0, 10, 30, 100, 300 и 1000 пг/мл. Жидкие, по 0,5 мл каждый, готовые к использованию.
- Реагент кроличьего анти-эстрадиола (розового цвета), 7 мл.
- Реагента эстрадиол-HRP конъюгата (синего цвета), 12 мл.
- Эстрадиол контроль 1, жидкий, 0,5 мл, готовый к использованию.

- Эстрадиол контроль 2, жидкий, 0,5 мл, готовый к использованию.
- Реагент ТМБ (одноэтапный), 11 мл.
- Стоп-раствор (1N HCl), 11 мл.

#### Требуемые, но не поставляемые материалы:

- Точные пипетки: 25, 50, 100, 200 мкл и 1,0 мл.
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Вихревой смеситель (вортекс) или его аналог.
- Абсорбирующая бумага или бумажное полотенце.
- Миллиметровая бумага.
- Микротитрационный планшетный считыватель.

#### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

Не существует методик, дающих полную гарантию отсутствия вируса гепатита В, ВИЧ/ЛАВ, или других инфекционных агентов в реагентах набора. Поэтому, все продукты человеческой крови, включая образцы пациентов, должны рассматриваться как потенциально инфекционные.

#### ЗАБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Для анализа должна использоваться только сыворотка человека.
2. Образцы не нуждаются в специальной предварительной обработке.
3. Образцы сыворотки могут храниться до 24 часов при 2-8°C и должны замораживаться при -10°C или ниже при более длительном хранении. Не используйте высоко гемолизированные или липемические образцы.
4. **Примечание:** не должны использоваться образцы, содержащие азид натрия.

#### ХРАНЕНИЕ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Не вскрытые наборы должны храниться после из получения при 2-8°C и микротитрационный планшет должны содержаться в герметичном пакете с осушителями, чтобы минимизировать влияние влажного воздуха. Открытые наборы будут сохранять свою активность до окончания срока годности при соблюдении вышеуказанных условий хранения. Микротитрационный планшетный считыватель с шириной световой дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-3 ОП при длине волны 450 нм подходит для использования измерения абсорбции.

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Приведите все реагенты, которые будут использоваться к комнатной температуре (18-25°C).
2. Образцы с ожидаемыми концентрациями эстрадиола более чем 1000 пг/мл могут быть проанализированы количественно путем разбавления разбавителем, предоставляемым продавцом.

#### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите в держателе желаемое количество покрытых лунок, которые будут использоваться.
2. Пипеткой внесите 25 мкл каждого стандарта, контроля и образца в соответствующие лунки.
3. Внесите 100 мкл реагента эстрадиол-HRP конъюгата в каждую лунку.
4. Распределите 50 мкл реагента кроличьего анти-эстрадиола в каждую лунку.
5. **Тщательно перемешайте в течении 30 сек. Очень важно полностью перемешать.**
6. Инкубируйте 90 минут при комнатной температуре (18-25°C).
7. Промойте лунки дистиллированной или деионизированной водой 5 раз и встряхните их содержимое. (Не использовать проточную воду).
8. Внесите 100 мкл ТМБ реагента в каждую лунку. Осторожно перемешайте в течении 10 сек.
9. Инкубируйте 20 минут при комнатной температуре (18-25°C).
10. Остановите реакцию путем добавления 100 мкл стоп-раствора в каждую лунку.
11. Осторожно перемешайте в течении 30 сек. **Очень важно убедиться в том, что весь синий цвет стал полностью желтым.**
12. Измерьте абсорбцию при 450 нм с помощью микротитровального планшетного считывателя **в течении 15 минут.**



4. Результаты, полученные от использования этого набора должны использоваться только как дополнение к другим диагностическим процедурам и информации, располагаемой врачом.

#### **КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Квалифицированная лабораторная практика требует, чтобы контроли использовались в каждой калибровочной кривой. Статистически важное количество контролей должно анализироваться, чтобы установить средние значения и приемлемые диапазоны, чтобы обеспечить соответствующую эффективность набора.

В качестве контроля рекомендуется использовать BIO-RAD LYRHOСHEK IMMUNOASSAY CONTROL SERA. Данный набор также поставляется с внутренними контролями, Уровень 1 и 2.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

(См. в оригинале инструкции).

#### **ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:**

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
Тел.: (0342) 775122  
Тел/факс: (0342) 775612  
E-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

