



## НАБОР ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭСТРИОЛА

### ESTRIOL EIA kit

Кат. № : 102-3717  
Количество : 96  
Производитель : DRG (USA)

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

Методика от 05/04

#### ПРИНЦИП МЕТОДА.

Общий эстриол (антиген) в образце конкурирует с эстриол-пероксидазой хрена (энзимно-меченный антиген) за связывание к ограниченному числу анти-эстриол (антитело) на микропланшете (твердая фаза). После инкубации связывание/свободное разделение проводится простым твердо-фазовым промыванием. Энзимный субстрат ( $H_2O_2$ ) и хромоген (ТМВ) добавляется. После соответствующего времени развивается окрас, энзимная реакция останавливается и определяется абсорбция. Концентрация эстриола в образце вычисляется, основывается на серии стандартов. Интенсивность цвета обратно пропорциональна концентрации общего эстриола в образце.

#### РЕАГЕНТЫ.

##### Реагенты и материалы, поставляемые в наборе

\* $S_1 - S_2 - S_3 - S_4$  (по одной бутылке каждого) стандарты эстриола

1. Инкубационный буфер (1 бутылка), 30 мл  
Фосфатный буфер 50 мМ рН 7,4; PBC 1 гр/л
2. Конъюгат (1 бутылка), 0,4 мл  
Эстриол - HRP конъюгат
3. Антитело (1 микропланшет)  
Анти-эстриол IgG абсорбированный к микропланшету
4. Хромоген (1 бутылка), 12 мл  
 $H_2O_2$  ТМВ 0,25 гр/л (избегайте контакта с кожей)
5. Стоп раствор (1 бутылка), 12 мл  
Серная кислота 0,15 моль/л (ядовитый: избегайте контакта с кожей).

#### Примечание

Храните реагенты при 2-8<sup>0</sup>С в темноте  
Вскрываете пакет с реагентом 3 (антитело), только при комнатной температуре и закрываете немедленно.  
Не удаляйте пленку со стрипов, что не используются

#### Необходимые, но не поставляемые реагенты

Дистиллированная вода

#### Необходимые материалы и инструментарий

Автоматический диспенсер  
Микропланшетный ридер

#### Приготовление реагентов

1. **Разбавленный конъюгат** (Приготовьте непосредственно перед использованием)

Добавьте 10 мкл начального раствора (реагент 2) к 2,0 мл инкубационного буфера (реагент 1).

Аккуратно перемешайте.

2. **Стандарт ( $S_1, S_2, S_3, S_4$ )** (жидкие)

Перед использованием, перемешайте 2 минуты на вращающемся миксере.

Стандарты имеют следующую концентрацию:

	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$
нг/мл	2,0	20,0	80,0	200,0

Стабильны до окончания срока годности

После вскрытия стандарты стабильны шесть месяцев при +4<sup>0</sup>С.

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦА

Определение эстриола может проводится в плазме и сыворотке

**Плазма или сыворотка:** Храните образцы при -20<sup>0</sup>С, если не проводится анализ в день сбора образцов.

#### Предостережение:

- Не используйте сильно гемолизированные образцы
- Необходима максимальная точность при разбавлении и внесении образцов.
- Этот метод дает возможность определения общего эстриола от 2 нг/мл до 200 нг/мл
- Клиническое значение определение эстриола может быть неверным, если пациент поддавался обработке натуральными или синтетическими стероидами.

#### ПРОЦЕДУРА

Поскольку необходимо проводить определение в дубликате, приготовьте две ячейки для каждого из четырех точек стандартной кривой ( $S_1-S_4$ ), два для  $V_0$  и для каждого образца, один для бланка.

Пипетировать:

	$V_0$	Стандарт	Образец	Бланк
Реагент 1	20 мкл	-	-	-
Образец	-	-	20 мкл	-
Стандарты $S_1-S_4$	-	20 мкл	-	-
Разбавленный конъюгат	200 мкл	200 мкл	200 мкл	-

Инкубировать при 37<sup>0</sup>С **1 час.**

Удалить содержимое каждой ячейки; промыть ячейки 300 мкл дистиллированной воды. Повторите процедуру промывания, высушивая воду полностью.

Пипетировать:

	$V_0$	Стандарт	Образец	Бланк
ТМВ/Субстрат	100	100 мкл	100 мкл	100

	мкл		мкл
--	-----	--	-----

Инкубировать при 20-25°С **15 минут** в темноте

Пипетировать:

	V <sub>0</sub>	Стандарт	Образец	Бланк
Стоп раствор	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считать абсорбцию (E) при 450 нм против бланка

Информация для заказа:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
 Ул. Чорновола 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
 Тел.: (0342) 775 122  
 Тел/факс: (0342) 775612  
 E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)

## СТАНДАРТНАЯ КРИВАЯ – ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### Средняя абсорбция и процент соотношения

Вычисление средней абсорбции (E<sub>м</sub>) соответственно одной точки стандартной кривой (S<sub>1</sub>-S<sub>4</sub>) и каждого образца. Выразите данные как процент средней абсорбции V<sub>0</sub> (E<sub>м</sub>V<sub>0</sub>) за следующей формулой:

$$(V/V_0)\% = E_m / (E_m V_0) \times 100$$

### Стандартная кривая

Отложите значение стандартов (S<sub>1</sub>-S<sub>4</sub>) выраженные как (V/V<sub>0</sub>)% на вложенной логарифмической бумаге. Проведите линию через эти точки.

### Вычисление результатов

#### Плазма или сыворотка

Вычислите значения образцов, выраженные как (V/V<sub>0</sub>)% из стандартной кривой для получения соответствующие значения концентрации выраженные в нг/мл.

## УСТАНОВЛЕННЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Смотрите в оригинале инструкции на англ. языке.

## ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Специфичность

Перекрестная реактивность антитела, вычисленная при 50% соответственно методу Абрагама, показана в таблице в оригинале инструкции на англ. языке.

### Чувствительность:

Чувствительность этого метода, вычисленная при двух С.О. V<sub>0</sub> равна 1 нг/мл, когда значение (V/V<sub>0</sub>)% равно приблизительно 90%.

### Точность

Внутри и между тесовая точность имеет КВ 3,6% и 6,1% соответственно.

### Достоверность

Восстановление 1,0 – 20,0 – 80,0 – 200,0 нг/мл эстриола, добавленного к образцу «без плазмы» дало средний результат (±SE) 94%±4,0% при сравнении с оригинальной концентрацией.

### Корреляция с RIA

Корреляция с RIA проводилась на том самом образце

$$Y = 0,95 + 1,06x$$

$$R = 0,987$$

$$N=32$$

$$P<0,001$$

