



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°C 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°C.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦА

Определение эстриола может проводится в плазме и сыворотке

Плазма или сыворотка: Храните образцы при -20°C, 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°C **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 ₀	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

СТАНДАРТНАЯ КРИВАЯ – ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Средняя абсорбция и процент соотношения

Вычисление средней абсорбции (E_м) соответственно одной точки стандартной кривой (S₁-S₄) и каждого образца. Выразите данные как процент средней абсорбции V₀ (E_мV₀) за следующей формулой:

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

Стандартная кривая

Отложите значение стандартов (S₁-S₄) выраженные как (V/V₀)% на вложенной логарифмической бумаге. Проведите линию через эти точки.

Вычисление результатов

Плазма или сыворотка

Вычислите значения образцов, выраженные как (V/V₀)% 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. V₀ равна 1 нг/мл, когда значение (V/V₀)% 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

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

$$R = 0,987$$

$$N=32$$

$$P<0,001$$

