

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭСТРАДИОЛА

EIA-2693, Estradiol

Каталог. № : EIA-2693
Количество : 96
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 09-2015
Версия 13.0



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

1. ВВЕДЕНИЕ

1.1 Назначение

Настоящий набор является иммуноферментным анализом для количественного измерения в человеческой сыворотке или плазме эстрадиола при диагностике *in vitro*.

2. ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Набор DRG Estradiol ELISA базируется на принципе конкуренции и планшеткового разделения.

Лунки микропланшета покрыты антителом, направленным против уникальной антигенной стороны эстрадиола молекулы.

Эндогенный эстрадиол образцов пациентов конкурирует с эстрадиолом, конъюгированного с пероксидазой конкурируют за связывание с антителом, которым покрыто дно лунок. После инкубации планшет промывается.

Количество связанного конъюгата пероксидазы обратно пропорционально концентрации эстрадиола в образце. После добавления раствора субстрата интенсивность развитого окраса обратно пропорционально концентрации эстрадиола в образце.

3. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Для диагностики *in vitro*.
- Относительно информации по безопасности, которые включены в набор, следуйте листу данных по безопасности.
- Этот набор может содержать реагенты, приготовленные из человеческой сыворотки или плазма. Использованные сыворотка или плазма исследовались методом, утвержденным FDA, и найдено, что они не содержат антител к ВИЧ-1/2, HCV и HBsAg. Тем не менее, так как не существует метода, дающего полную гарантию отсутствия ВИЧ, HCV, вируса гепатита В или каких-либо других инфекционных агентов, то с данными реагентами надо обращаться как с потенциально инфекционно-опасным материалом.
- Избегайте контактов с кислотой стоп раствора. Это может привести к раздражению кожи и ожогам.
- Не пипетируйте ртом и избегайте контакта кожи и слизистых с реагентами.
- Не курите, не пейте, не ешьте и не применяйте косметику в местах работы с реагентами.
- Используйте одноразовые перчатки при обращении с образцами и реагентами. Микробиологическое загрязнение реагентов или образцов может влиять на результаты.
- Обращайтесь с реагентами согласно правилам безопасности.
- Не используйте реагенты после истечения срока пригодности.
- Необходимо придерживаться всех объемов, описанных в инструкции. Оптимальные результаты получают при использовании калиброванных пипеток.
- Не смешивайте компоненты разных наборов. Не рекомендуется менять местами лунки разных планшеток даже от одного набора. Наборы могут транспортироваться разными способами, поэтому допускается незначительное различие.
- Химикалии и приготовленные или использованные реагенты необходимо обрабатывать согласно требованиям безопасности.
- Лист данных безопасности доступен по требованию.

4. РЕАГЕНТЫ

4.1 Поставляемые Реагенты

- Микротитрационные лунки**, 12x8 стрипов, 96 лунок
Лунки покрыты анти-эстрадиол поликлональным антителом.
- Стандарт (стандарт 0-6)**, 7 фл., 1 мл, готов к использованию
Концентрации: 0, 25, 100, 250, 500, 1000, 2000 пг/мл
Конверсия: 1 пг/мл=3,67 пмоль/л

- Контроль Низкий и Высокий**, 2 флакона, 1 мл, готовы к использованию. Значения и диапазоны указаны на флаконах или в листе Контроля Качества.
- Ферментный конъюгат**, 1 фл., 14 мл, готов к использованию. Эстрадиол, конъюгированный пероксидазой хрена.
- Раствор субстрата**, 1 фл., 14 мл, готов к использованию тетраметилбензидин (ТМВ).
- Стоп-раствор**, 1 фл., 14 мл, готов к использованию 0.5M H₂SO₄. Избегайте контакта со стоп-раствором. Он может вызвать ожоги.
- Промывочный раствор (40x)**, 1 фл., 30 мл. См. «Подготовка реагентов».

Примечание: Дополнительный 0 стандарт для разбавления образца доступен по запросу.

4.2 Необходимые, но не поставляемые материалы

- Микропланшетный ридер, способный проводить измерения при 450 нм (± 10 нм).
- Калиброванные точные пипетки.
- Абсорбирующая бумага.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Таймер.
- Полулогарифмическая графопостроительная бумага или ПО для обработки данных.

4.3 Условия хранения

При хранении при 2-8 °C неповрежденные реагенты будут сохранять свою активность до окончания срока годности. Не используйте реагенты после срока годности.

Все вскрытые реагенты должны храниться при 2-8 °C. Микропланшет необходимо хранить при 2-8 °C. После открытия пакета из фольги необходимо быть внимательным, чтобы снова его закрыть.

4.4 Приготовление реагентов

Приведите все реагенты и стрипы, которые будут использоваться, к комнатной температуре.

Промывочный раствор

Добавьте деионизированной воды к x40 концентрированному промывочному раствору.

Разбавить 30 мл концентрированного промывочного раствора 1170 мл деионизированной воды, чтобы достичь конечного объема 1200 мл. *Разбавленный промывочный буфер стабилен 2 недели при комнатной температуре.*

4.5 Уничтожение набора

Уничтожение набора необходимо делать согласно требованиям по безопасности. Специальная информация для данного продукта указана в листе данных по безопасности (см. раздел 13).

4.6 Поврежденные наборы

При повреждении набора или компонентов, необходимо уведомить производителя в течении 1 недели после получения набора. Поврежденные компоненты не должны использоваться в анализе. Их необходимо хранить до получения замены, после чего уничтожить.

5. ОБРАЗЦЫ

Для анализа должна использоваться сыворотка или плазма (ЭДТА, гепарин или цитратная плазма). Не используйте для анализа гемолизированные, иктерические и липемические пробы.

Примечание: в анализе не должны использоваться образцы, содержащие азид натрия.

5.1 Сбор образцов

Сыворотка:

Соберите кровь венепункцией (напр. Sarstedt Monovette для сыворотки), дайте возможность стечь и отделите сыворотку центрифугированием при комнатной температуре. Не центрифугировать до полного свертывания крови. Пациентам, проходящим терапию антикоагулянтами, может потребоваться больше времени для свертывания.

Плазма:

Цельная кровь должна быть собрана в центрифужные пробирки, содержащие антикоагулянт и центрифугировать после забора.

5.2 Хранение и подготовка образцов

Образцы должны быть закрытыми и храниться до 5 дней при 2-8 °C. Для более длительного периода образцы должны быть заморожены до -20 °C и храниться до проведения анализа. Оттаявшие образцы проверните несколько раз перед анализом.

5.3 Разбавление образцов

Образцы с начальными значениями выше, чем наивысший стандарт, необходимо разбавить 10- или 100-кратно 0 стандартом и повторно анализировать.

Для вычисления концентрации этот фактор разбавления необходимо учесть.

Например:

- Разбавление 1:10: 10 мкл сыворотки + 90 мкл 0 стандарта (тщательно перемешайте);
- Разбавление 1:100: 10 мкл разбавления «1:10» + 90 мкл 0 стандарта (тщательно перемешайте)

6. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

6.1 Общие замечания

- Перед использованием выдержите все реагенты при комнатной температуре. Тщательно перемешайте все реагенты и образцы перед использованием, легко переворачивая без образования пены.
- После начала исследования все этапы нужно выполнять без перерывов.
- Используйте каждый раз новые пластиковые пипетки для каждого стандарта, образца и контроля для предотвращения перекрестного загрязнения.
- Абсорбция является функцией времени инкубации и температуры. Приготовьте все необходимое перед началом исследования, чтобы не тратить время во время самого исследования.
- В основном ферментативная реакция является линейно пропорциональной времени и температуре.

6.2 Процедура анализа

В каждой процедуре должна быть включена калибровочная кривая.

1. Пометьте стрипы, которые будут использованы.
2. Пипеткой внесите по **25 мкл** стандартов, контролей и образцов, используя новые наконечники, в соответствующие лунки планшета.
3. Добавьте **100 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку планшета. Тщательно перемешайте на протяжении 10 сек. Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
4. Инкубируйте в течение **90 минут** при комнатной температуре.
5. Вытряхните содержимое лунок. Промойте разведенным промывочным раствором три раза (**400 мкл** на лунку). Резко встряхните планшетку над фильтровальной бумагой и промокните остатки влаги.
Важное замечание:
Чувствительность и точность анализа зависит от правильного исполнения процедуры промывания!
6. Добавьте **100 мкл** раствора субстрата в каждую лунку.
7. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре.
8. Добавьте **50 мкл** стоп реагента в каждую лунку.
9. Измерьте оптическую плотность каждой лунки при **450 нм ± 10 нм** в течение **10 минут** после добавления стоп раствора.

6.3 Вычисление результатов

1. Вычислите среднюю абсорбцию для каждого стандарта, контроля и образца.
2. Постройте стандартную кривую откладывая среднюю абсорбцию полученную для каждого стандарта против его концентрации при значении абсорбции на оси Y и концентрации на оси X.
3. Используя значение средней абсорбции для каждого образца, определите соответствующую концентрацию на стандартной кривой.
4. Автоматические данные, компьютерные программы, кубический сплайн, 4 PL или логарифмический также дают хорошие результаты.
5. Концентрация образцов может считаться со стандартной кривой. Образцы с концентрацией выше, чем концентрация наивысшего стандарта необходимо разбавить. При вычислении концентрации этот фактор разбавления необходимо учитывать.

6.3.1 Пример типичной калибровочной кривой

Последующие данные приведены с целью демонстрации и **не могут** использоваться вместо данных, полученных во время анализа.

Стандарт		Оптич. единицы
Стандарт 0	0 пг/мл	2,09
Стандарт 1	25 пг/мл	1,83
Стандарт 2	100 пг/мл	1,49
Стандарт 3	250 пг/мл	1,15
Стандарт 4	500 пг/мл	0,85
Стандарт 5	1000 пг/мл	0,55
Стандарт 6	2000 пг/мл	0,28

7. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Настоятельно рекомендуется, что каждая лаборатория установила собственные нормальные и патологические значения.

При изучении очевидно здоровых взрослых, используя данный набор, были получены следующие данные:

Население	n	Диапазон (пг/мл)	Среднее (пг/мл)	Медиана (пг/мл)	2.5 -97.5 Процентиль (пг/мл)
Мужчины	30	30.1-68.1	50.4	51.2	30.0-68.0
Женщины до менопаузы	40	28.1-178.1	82.4	75.0	28.3-173.2
фолликулярная фаза	25	51.2-549.0	166.4	132.7	53.5-465.6
овуляция					
лютеальная фаза	36	33.6-250.9	93.9	89.3	38.7-172.4
пост-менопауза	14	18.4-64.0	37.6	37.5	19.0-63.2

8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контроли согласно государственным и федеральным правилам. Использование контроля дает возможность повседневной оценки достоверности результатов. Используйте контроли и нормального уровня, и патологического.

Контроли и соответствующие результаты QC лаборатории указаны в QC сертификате, что поставляется с набором. Величины, указанные в данном сертификате соответствуют лоту набора и должны использоваться для сравнения результатов.

Также рекомендуется использовать национальные и международные программы оценки качества для подтверждения достоверности результатов.

Используйте соответствующий статистический метод для анализа величин контроля. Если результаты анализа не попадают в установленные границы материалов контроля, результаты являются не достоверными.

В таком случае проверьте следующие данные: устройства пипетирования и измерения времени; фотометр; даты пригодности реагентов, условия хранения и инкубации, методы аспирации и промывания.

Если не обнаружено ошибки, обратитесь к Вашему поставщику.

9. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 Динамический диапазон анализа

Диапазон анализа находится между 10.6 - 2000 пг/мл.

9.2 Специфичность (перекрестная реактивность)

(См. таблицу в оригинале инструкции).

9.3 Чувствительность

Аналитическая чувствительность была вычислена как среднее минус два стандартных отклонения 20 репликантов 0 стандарта и равна 10.60 пг/мл.

9.4 Воспроизводимость

9.4.1 В анализе

Вариабельность анализа указана ниже:

Образец	К-во	Среднее пг/мл	КВ %
1	20	92.54	9.23
2	20	144.35	8.98
3	20	340.66	8.70

9.4.2 Между анализами

Вариабельность анализа указана ниже:

Образец	К-во	Среднее пг/мл	КВ %
1	12	151.28	14.91
2	12	336.74	10.83
3	12	661.38	6.87

9.5 Восстановление

Образцы были обогащены добавлением растворов эстрадиола при известных концентрациях в соотношении 1:1.

Ожидаемые значения были вычислены добавлением половины значения, определенных для неразбавленных образцов и половины значений для известных растворов. % восстановления был вычислен умножением коэффициента измерений и ожидаемых значений на 100.

(Табл. см. Оригинал инструкции).

9.6 Линейность

(Табл. см. Оригинал инструкции).

10. ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

10.1 Влияющие вещества

Неправильное обращение с образцами или модификация исследования может влиять на результаты.

Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0,5 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не влияют на результаты анализа.

10.2 Влияние лекарств

До сегодняшнего дня не известны вещества (лекарства), что влияют на результаты анализа.

10.3 Хук-эффект

В данном анализе хук-эффект не наблюдался.

11. ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

11.1 Достоверность результатов

Исследование должно проводиться точно с инструкцией производителя. Также пользователь должен следовать национальным стандартам и законам. Это особенно относится к использованию контролей. Очень важно всегда включать в анализ достаточное количество контролей для оценки достоверности и точности анализа.

Результаты исследования достоверны только если контроли попадают в указанные границы и если все другие параметры соответствуют спецификации.

11.2 Терапевтические заключения

Терапевтическое заключение никогда не должно основываться на результатах лабораторных исследований. Оно должно учитывать полностью всю клиническую картину пациента.

Исследованные результаты не должны быть единственным фактором, на основе которого ставится терапевтическое заключение.

11.3 Надежность

Любые изменения набора и/или смешивания компонентов разных лотов могут отрицательно влиять на результаты исследования.

Такие модификации не могут быть причиной для замены набора.

Любые повреждения при транспортировке набора не является ответственностью производителя.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com