

## ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

### Набір реагентів для кількісного імуноферментного визначення естрадіолу (Естрадіол–БЕСТ)

#### 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «Естрадіол–БЕСТ» призначений для кількісного *in vitro* визначення концентрації естрадіолу у сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу.

У випадку дробового застосування необхідна обов'язкова постановка всіх каліброваних проб для кожного окремого аналізу.

#### 2. СКЛАД НАБОРУ

**Планшет** - полістирольний, з іммобілізованими поліклональними антитілами до естрадіолу **1 упаковка**

**Кон'югат** – естрадіол - пероксидаза **1 флакон**

**Калібрувальні проби (КП):** **комплект**

**КП№1**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0 нмоль/л естрадіолу,

**КП№2**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0,1 нмоль/л естрадіолу,

**КП№3**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0,3 нмоль/л естрадіолу,

**КП№4**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 1 нмоль/л естрадіолу,

**КП№5**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 3 нмоль/л естрадіолу,

**КП№6**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 20 нмоль/л естрадіолу,

**Коефіцієнт перерахунку** – 1 нмоль/л = 272 пг/мл

**КС (контрольна сироватка)** містить відому кількість естрадіолу, діапазон концентрацій зазначений на етикетці флакону. **1 флакон**

**ТМБ (Розчин тетраметилбензидина)** **1 флакон**

**Стоп-реагент** **1 флакон**

**Промиваючий розчин**, концентрований водно-сольовий розчин для промивання. **1 флакон**

*Додатково до складу набору можуть входити:* захисна плівка для мікропланшетів; пластикові ванночки для реактивів; одноразові наконечники; поліетиленовий пакет із замком для зберігання мікропланшета.

#### 3. АНАЛІТИЧНІ Й ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ.

**3.1. Чутливість.** Мінімальна достовірно обумовлена набором концентрація естрадіолу в аналізованому зразку не перевищує 0,25 нмоль / л.

**3.2. Специфічність.** Перехресна реакція антитіл до естрадіолу з іншими стероїдами не більше 0,5%.

**3.3. Очікувані значення.**

Стать	Період	Концентрація (нмоль/л)
Ж	0-8 років	0,15
Ч		0,55
Ж	7-й день МЦ	0,11-0,51
Ж	14-й день МЦ	0,57-1,69
Ж	21-й день МЦ	0,21-0,81
Ж	Менопауза	0,005-0,25
Ч		0,07-0,2
Ж	Вагітність	
	Тижні	Концентрація
Ж	3-6	0,5-4
Ж	7-8	4,0-7,5
Ж	9-10	7,5-8,5
Ж	11-12	8,5-10,9
Ж	13-14	10,5-12,0
Ж	15-16	12,0-21,5
Ж	17-18	21,5-29,0
Ж	19-20	29,0-37,0
Ж	21-22	37,0-38,0
Ж	23,24	38,0-42,0
Ж	25-26	42,0-45,0
Ж	27-28	45,0-50,0
Ж	29-30	50,0-52,0
Ж	31-32	52,0-55,0
Ж	33-34	55,0-57,5
Ж	35-36	57,5-59,0
Ж	37-38	59,0-61,0
Ж	39-41	61,0-66,0

#### 4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не пікетувати розчини ротом; всі використані матеріали дезінфікувати відповідно до вимог чинного законодавства.

## **5. ОБЛАДНАННЯ Й МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ ПРИ РОБОТІ З НАБОРОМ:**

Одно- Фотометр вертикального сканування, шейкер – інкубатор, вошер, центрифуга лабораторна на 2,5- 3,0 тис. об / хв., холодильник побутовий, піпетки напівавтоматичні одно каналні і багатоканальні рукавички гумові хірургічні, колба мірна, папір фільтрувальний, вода дистильована.

## **6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ.**

**6.1.** Узяття крові для аналізу слід проводити з використанням стандартних процедур для венозної крові, а зразки сироватки повинні бути звільнені від клітин крові центрифугуванням. Після центрифугування сироватка крові повинна бути перенесена в окрему пробірку.

**6.2.** Слід уникати використання в аналізі плазми крові, гемолізованої, мутної або гіперліпемічної сироватки. Не допускається використання як консервант азиду натрію.

**6.3.** Зразки сироватки крові слід використати протягом 24 годин з моменту отримання за умови їх зберігання при +2...8°C. Для більш тривалого зберігання зразки необхідно заморозити при температурі нижче -20°C. Уникати повторного заморожування зразків.

## **7. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.**

### **7.1 . Підготовка реагентів**

7.1.1 . Стрипи . Перед розкриттям пакет зі стрипами необхідно витримати при кімнатній температурі ( +18 ... 25 ° C ) не менше 30 хвилин. Розкрити пакет і переставити на вільну рамку необхідну кількість стрипів . Залишок упакувати у фольгований пакет та зберігати до кінця терміну придатності при +2...8°C.

7.1.2 . Рідкі калібрувальні проби і контрольна сироватка готові до використання.

Для відновлення ліофілізованих калібрувальних проб та контрольної сироватки перед розкриттям флаконів легким постукуванням струсити частинки , які прилипли до стінок флаконів або до кришок . Відкрити флакони і покласти кришки перевернутими на суху поверхню. У кожний флакон з калібрувальної пробі та контрольної сироваткою внести по 1,0 мл дистильованої води і закрити кришками. Витримати флакони протягом 10 хвилин при кімнатній температурі ( +18 ... 25 ° C ) без перемішування . Потім , акуратно нахилиючи і обертаючи флакони , перемішати їх вміст до повного розчинення , уникаючи піноутворення . Протягом наступних 10 хвилин витримати флакони при кімнатній температурі , періодично перемішуючи.

7.1.3 . Кон'югат готовий до використання. Витрата кон'югату на один стрип становить 0,8 мл .

7.1.4 . Розчин для промивання . Необхідну кількість розчину розвести дистильованою водою в 26 разів.

Наприклад:

1 мл Промиваючого розчину+ 25 мл дистильованої води. Ретельно перемішати , уникаючи піноутворення .

7.1.5 . Розчин тетраметилбензидину ( ТМБ ) готовий до використання. Витрата ТМБ на один стрип становить 0,8 мл .

7.1.6 . Стоп - реагент готовий до використання. Витрата стоп- реагенту на один стрип становить 0,8 мл .

7.1.7 . Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути ретельно перемішані і доведені до кімнатної температури ( +18 ... 25 ° C ) .

### **7.2 . Постановка аналізу**

7.2.1 . Скласти протокол маркування лунок. Лунки промаркувати наступним чином :

A1 , A2 - № 1 - для вимірювання величини оптичної щільності розчину ТМБ ;

B1 , B2 - № 2 - для вимірювання величини оптичної щільності КП № 1 ;

C1 , C2 - № 3 - для вимірювання величини оптичної щільності КП № 2 ;

D1 , D2 - № 4 - для вимірювання величини оптичної щільності КП № 3 ;

E1 , E2 - № 5 - для вимірювання величини оптичної щільності КП № 4 ;

F1 , F2 - № 6 - для вимірювання величини оптичної щільності КП № 5 ;

G1 , G2 - № 7 - для вимірювання величини оптичної щільності КП № 6 ;

H1 , H2 - № 8 - для вимірювання величини оптичної густиниконтрольної сироватки.

7.2.2 . Внести у відповідні лунки по 25 мкл калібрувальних проб та контрольної сироватки , в що залишилися лунки по 25 мкл досліджуваних зразків у дублікатах .

Примітка: загальний час внесення калібрувальних проб , контрольної сироватки і досліджуваних зразків не повинно перевищувати 15 хвилин , інакше час інкубації різних зразків буде значно відрізнятися , що призведе до неправильних результатів .

7.2.3 . У всі лунки , крім A1 і A2 , внести по 100 мкл кон'югату.

7.2.4 . Інкубувати стрипи протягом 60 хвилин при струшуванні в термо- шейкері при температурі +37 ° C зі швидкістю 600 об / хв . (допускається без шейкування при температурі +37 ° C 120 хв.)

7.2.5 . По закінченні інкубації видалити вміст лунок в контейнер з дезінфікуючим розчином і промити лунки 5 разів. При кожній промивці в усі лунки додавати по 250 мкл розчину для промивання , приготованого за п. 7.1.4 . , Струснути рамку на шейкері протягом 5-10 секунд з наступним декантуванням . Після останнього декантування ретельно видалити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі стрипами в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу .

Допускається промивка лунок за допомогою автоматичного промивання пристрою.

7.2.6 . Негайно внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ . Інкубувати стрипи в темноті при кімнатній температурі +18 - 25 ° С протягом 15 хвилин.

7.2.7 . Додати в усі лунки з тією ж швидкістю і в тій же послідовності , як і розчин ТМБ , по 100 мкл стоп- реагенту для зупинки ферментної реакції , перемішати на шейкері протягом 1-2 хвилин при кімнатній температурі ( +18 ... 25 ° С )

7.2.8 . Якщо неможливо виміряти оптичну густина у лунках планшета безпосередньо після виконання п. 7.2.7 . , то слід мати на увазі , що забарвлення в лунках планшета стабільна не більше 15 хвилин при температурі +18 ... 25 ° С.

## 8 . РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти на фотометрі вертикального сканування оптичну густина у лунках при довжині хвилі 450 нм. Якщо значення оптичної густини перевищує межу лінійності спектрофотометра , зчитування результатів проводять при 405 нм. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу .

При реєстрації результатів необхідно віднімати величину оптичної густини в лунках А1 і А2 з значень оптичної густини всіх інших лунок.

**Примітка:** *середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках А1 і А2 не повинно перевищувати 0,09 од ОГ при 450 нм.*

## 9 . ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

9.1 . Побудувати калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації естрадіолу в калібрувальних пробах ( нмоль / л ) ( Малюнок). Зовнішній вигляд графіка залежить від способу перетворення осей .

**Примітка:** *для побудови калібрувального графіка на масштабній папері необхідно користуватися формулою 1 або 2.*

*Якщо програма фотометра дозволяє віднімати величину оптичної густини в лунках А1 і А2 з значень оптичної густини всіх інших лунок , то для розрахунків для кожної калібрувальної або досліджуваної проби використовувати формулу:*

$$B/B1 \times 100 \% , ( 1 )$$

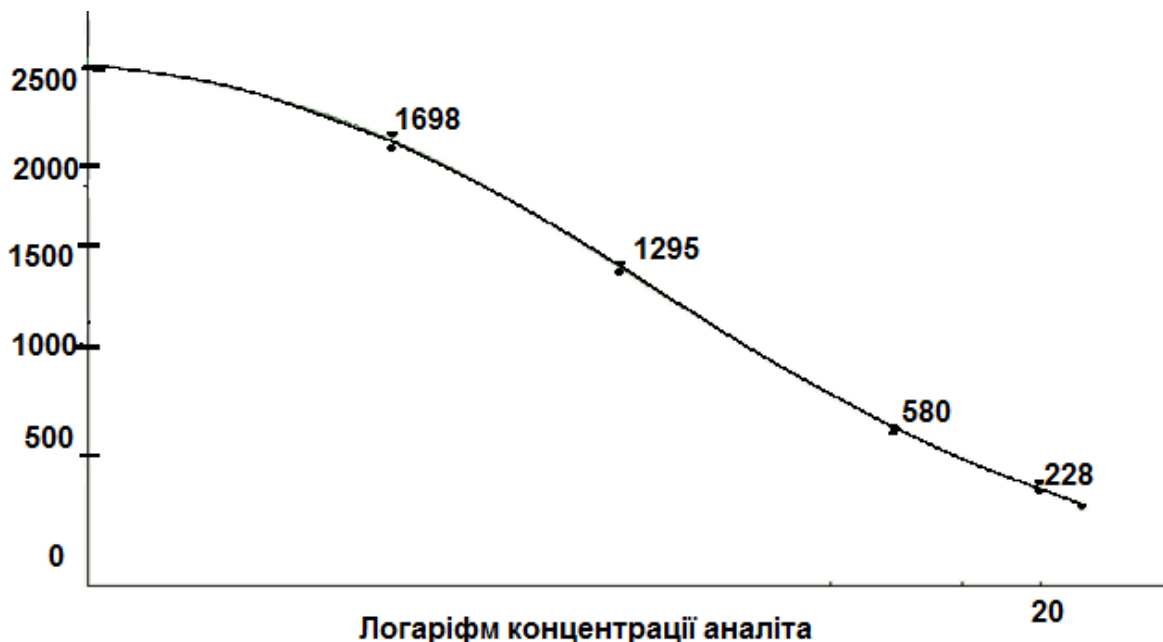
*Якщо програма фотометра не дозволяє віднімати величину оптичної густини в лунках А1 і А2 , то використовувати формулу:*

$$(B - BT) / ( B1 - Bm ) \times 100 \% , ( 2 )$$

*де B - середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках , що містять калібрувальні або досліджувані проби ,  
B1 - середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках , що містять калібровану пробу № 1 ,  
BT - середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках А1 і А2.*

9.2 . Визначити вміст естрадіолу в пробах за калібрувальним графіком.

9.3 . Екстраполяція калібрувального графіка для значень концентрації естрадіолу , що перевищують номінал КП № 6 , не допускається. За наявності таких випадків приймати значення концентрації досліджуваного зразка « вище концентрації КП № 6».



Log концентрації естрадіолу, нмоль / л  
Малюнок . Типовий калібрувальний графік

## 10 . УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

Набори зберігати і транспортувати при (2-8)°С. Допускається транспортування при температурі до 25°С не більше 10 діб. Промиваючий розчин підготовлений до використання зберігати не більше 30 діб. при (2-8)°С

Не допускати заморожування!

Термін придатності набору реагентів – 14 місяців з дня випуску.

*З питань, що стосуються якості набору, звертатися в ТОВ «Бест Діагностик» за адресою:*

*04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9, тел./факс: (044) 500-57-11 E-mail: [info@bestdiagnostic.com.ua](mailto:info@bestdiagnostic.com.ua)*

Виробник залишає за собою право вразі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції.