



НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ свободного эстриола

Кат. № : 103-1612
Количество : 96
Производитель : DRG (США)

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

Методика от 08/07
Версия 7.0

СФЕРА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Иммуноферментный набор Эстриол от DRG предназначен для определения "in vitro" неконъюгированного эстриола в сыворотке человека во время второй половины беременности.

ОБЪЯСНЕНИЕ ТЕСТА

Эстриол (ЕЗ) - наибольший эстроген, вырабатываемый плацентой плода во время беременности.

Неконъюгированный ЕЗ через плаценту попадает в кровь матери, где быстро конвертируется в глюкоронид и сульфатные дериваты, что способствует его экскреции.

Период полужизни ЕЗ в крови матери только 20-30 минут. Так что, его измерение требует удобной и быстрой технологии, чтобы оценить текущее состояние плода.

Уровни эстриола увеличиваются в плазме во время всей беременности, но особенно в третий триместр (28-40 неделя).

Резкое уменьшение продукции ЕЗ плацентой плода проявится быстрым падением уровня неконъюгированного ЕЗ в сыворотке матери.

Измерения неконъюгированного ЕЗ по сравнению с измерением тотального или ЕЗ в моче дает несколько существенных преимуществ. Уровни неконъюгированного ЕЗ не зависят от наличия у матери заболеваний печени или почек и назначение некоторых антибиотиков на них также не влияет. Уровень неконъюгированного ЕЗ точно отображает исход у беременных с сахарным диабетом, а это значит, что не требуется проведения реакции гидролиза неконъюгированного ЕЗ и результаты теста можно получить быстрее.

Для измерения неконъюгированного ЕЗ в неэкстрагированной сыворотке набор предоставляет неизотопный метод. В этом методе используются высоко специфическое эстриоловое антитело и маркированный ферментом аналит. Цветной конечный продукт можно измерять на фотометре. Длительный период полужизни этого продукта вместе с отсутствием радиоизотопов, что требует лицензированной аппаратуры, делает этот метод пригодным для больших и малых лабораторий.

ПРИНЦИП МЕТОДА

DRG Эстриол EIA это иммуноферментный набор, основанный на принципе конкурентного связывания. Эстриол конъюгируется с ферментом щелочной фосфатазой. Сыворотка с эстриолом (то есть стандарт или образец пациента) смешивается с ферментным конъюгатом и добавляется в лунки. Эстриоловое антитело уже предварительно нанесено на дно лунок. После 1 часа инкубации свободная эстриол-щелочная фосфатаза вымывается буфером. К антитело-связанной эстриол-щелочной фосфатазе, что иммобилизовано в лунках, добавляется субстрат. После короткой инкубации добавляется стоп раствор, что дает образование цветного продукта, интенсивность которого измеряют на фотометре.

РЕАГЕНТЫ

Храните реагенты при 2-8°C.

1. **Микротитровальные лунки** покрывающее лунки (8x12 лунок в стрипе на планшетку). Содержит эстриоловое антитело.
2. **Стандарты Сывороточного Эстриола, (0,0,3-1,2 - 4,0-15-40 нг/мл)**, 6 фл./1 мл каждый. Каждый флакон содержит Эстриол, сыворотку, буферную соль и консерванты.

ВНИМАНИЕ: ОБРАЩАЙТЕСЬ С РЕАГЕНТАМИ КАК С ПОТЕНЦИАЛЬНО-ИНФЕКЦИОННЫМИ. Использованные сыворотка и стандарты тестировались и найдено, что они не содержат антител к HIV и HBsAg. Тем не менее, не существует метода, дающего полную

гарантию отсутствия ВИЧ, HCV, вируса гепатита В или каких-либо других инфекционных агентов.

3. **Конъюгат Эстриол-энзима, 14 мл.** Каждый флакон содержит эстриол-маркированную пероксидазу хрена.
4. **ТМВ Субстрат реагент, 14 мл.**
5. **Стоп раствор, 14 мл, H₂SO₄.**
6. **Моющий буфер, 30 мл. (40X).**

ПРИМЕЧАНИЕ: Утилизация: этот набор содержит сыворотку, для которой могут быть предусмотрены специальные процедуры утилизации. Перед выбрасыванием ненужных лишек реагентов поинтересуйтесь местными правилами утилизации медицинских отходов.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Калиброванные пипетки (10 и 00 мкл).
2. Микропланшетный ридер, способный проводить измерения при 450 нм.
3. Абсорбирующая бумага.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Обращайтесь с кровью и сывороткой, как с такой, что может передавать вирус гепатита и ВИЧ.
2. Сыворотка необходима для использования в процедуре теста ЕЗ.
3. Сразу же после сбора крови отделите сыворотку и храните ее плотно закрытой.
4. Образцы можно хранить в холодильнике (2-8°C) 4 дня. Если время хранения превысит 4 дня, необходимо заморозить образцы.
5. **ИЗБЕГАЙТЕ ПОВТОРНЫХ ЗАМОРАЖИВАНИЙ И ОТТАИВАНИЙ ОБРАЗЦОВ.**
6. Перед тестом замороженные образцы должны полностью оттаять и быть хорошо смешаны.
7. Не используйте сильно липемические образцы. (Их можно попробовать очистить перед тестом).
8. Умеренно липемические, гемолизированные и иктерические образцы не влияют на результаты теста.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ МОЩЕГО РАСТВОРА

Разведите концентрированный Моющий буфер добавлением 1170 мл дистиллированной воды до конечного объема 1200 мл. Хранить при 2-8°C до окончания срока пригодности.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

1. Добавьте 10 мкл Эстриол-стандарта в соответствующую лунку.
2. Добавьте 10 мкл каждого контроля и сыворотки пациента в соответствующую лунку.
3. Добавьте 100 мкл Эстриол-ферментного конъюгата во все лунки.
4. Инкубируйте при комнатной температуре 1 час.
5. Удалите жидкость и промойте 4 раза моющим буфером (300 мкл буфера на лунку), промокните на абсорбирующей бумаге, чтобы удалить остаток жидкости.
6. Добавьте 100 мкл реагента субстрата
7. Инкубируйте при комнатной температуре 30 минут.
8. Добавьте 100 мкл стоп раствора.
9. Считайте абсорбцию на фотометре при 450±10 нм.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

1. При пипетировании реагентов придерживайтесь одного порядка для всех лунок. Это даст возможность создать одинаковое инкубационное время для всех лунок. Проводите каждый следующий шаг без задержки.
2. Добавляйте все реагенты прямо на дно лунок.
3. Для достижения оптимальных результатов проводите тестирование стандартов и неизвестных образцов в дубле.
4. Все используемые пипетки, включая мультиканальные и автоматические приспособления для пипетирования должны иметь коэффициент вариации (КВ) меньше 1%.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ручное вычисление

1. Постройте стандартную кривую, где вычисленное для каждого стандарта эстриола среднее значение абсорбции откладывается против его концентрации со значением абсорбции на вертикальной оси Y и концентрацией на горизонтальной оси X, используя логарифмическую бумагу.
2. Проведите линию через отложенные точки.

3. Используя стандартную кривую, интерполируйте значения концентрации контролей и образцов с соответствующих значений абсорбции.

DRG ELISA MAT 3000 Reader DRG и Regression Program дают возможность считывания и компьютерной обработки данных при использовании четырех параметровой логичной функции или кубической регрессии.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Достоверные результаты будут получены только при условии следования всем рекомендациям, поданным в инструкции. Особенное внимание должно быть уделено осторожному обращению с реагентами, хранению, пипетированию и выливаю.

Неправильное обращение с образцами пациента также приведет к неправильным результатам. Всегда смешивайте оттаявшие образцы перед началом теста. Избегайте использования старых и неправильно обработанных образцов сыворотки. Деградация образцов как и повторные циклы замораживания-оттаивания приведут к неправильным результатам. Образцы нужно тестировать как можно раньше. Сильно гемолизированные, липемические или иктерические образцы также приведут к получению неправильных результатов. Подтверждение значений должно проводиться с использованием образца высокого качества.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

1. Не смешивайте реагенты разных наборов.
2. Не используйте реагенты после истечения их срока годности, который указан на этикетке.
3. Каждая лаборатория должна установить свои собственные критерии точности тестированием контролей, как в нормальных, так и в низких и высоких границах.
4. Используйте современные методы обработки данных.

КЛИНИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

1. Измерение Эстриола (Е3) в жидкостях тела рутинно используется для мониторинга состояния плода, особенно у пациентов с высоким риском невынашивания.
2. Концентрация Е3 в плазме постепенно растет в первые 20 недель беременности и более быстро в третий триместр.
3. Поскольку границы нормы и патологии достаточно широки, однократное измерение Е3 не имеет большой информативности. Для определения индивидуальных колебаний необходимо как раз мониторинг.
4. Постоянные низкие уровни или резкое и прогрессирующее падение уровня Е3 во время 3 триместра беременности указывают на дистресс плода и возможную его внутриматочную смерть.
5. Когда сделаны подобные наблюдения, предположение должно быть проверено альтернативными методами.
6. Интерпретация уровней неконъюгированного Е3 должна проводиться вместе с другими клиническими методами исследования, такими как амниоцентез и ультразвуковое исследование.
7. Субнормальные уровни Е3 часто определяются у пациентов, которые принимают некоторые антибиотики или кортикостероиды, а также у пациентов с патологией печени.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Неделя беременности	Ожидаемые границы нг/мл	Неделя беременности	Ожидаемые границы нг/мл	Двойня нг/мл
12	0,3-1,0	22-23	2,7-16	3-18
13	0,3-1,1	24-25	2,9-17	3-20
14	0,4-1,6	26-27	3,0-18	4-21
15	1,0-4,4	28-29	3,2-20	4-22
16	1,4-6,5	30-31	3,6-22	5-25
17	1,5-6,6	32-33	4,6-23	6-39
18	1,6-8,5	34-35	5,1-25	7-39
19	1,9-11	36-37	7,2-29	9-38
20	2,1-13	38-39	7,8-37	13-40
21	2,6-14	40-42	8,0-38	---

ПРИМЕР СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

Ниже поданы данные только для демонстрации и не могут быть использованы в качестве результатов теста.

Стандарты	Оптические единицы
Стандарт 0 (0 нг/мл)	1,79
Стандарт 1 (0,3 нг/мл)	1,48

Стандарт 2 (1,2 нг/мл)	1,18
Стандарт 3 (4,0 нг/мл)	0,81
Стандарт 4 (15,00 нг/мл)	0,52
Стандарт 5 (40,00 нг/мл)	0,38

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. Чувствительность

Минимально определенная чувствительность Эстриола свободного составляет $\leq 0,075$ нг/мл.

2. Специфичность

Специфичность данного набора была протестирована согласно методу Абрагама.

Стероид	Концентрация стероида	ОП 450	Измеренная концентрация
Эстриол (Е3)	40 нг/мл	0,39	39,67 нг/мл
Тестостерон	16 нг/мл	1,758	—
Эстрадиол (Е2)	2 нг/мл	1,579	—
Эстрон (Е1)	2 нг/мл	1,712	—
Кортизол	800 м	1,775	—

3. Точность

Вариация внутри теста

Сыворотка	Кол-во копий	Средн. нг/мл	КВ, %
1	20	2,13	4,66
2	20	6,22	3,17
3	20	14,58	3,01

Вариация между тестами

Сыворотка	Кол-во копий	Средн. нг/мл	КВ, %
1	12	2,08	4,59
2	12	5,66	8,50
3	12	13,31	9,49

4. Извлечение

Точность теста была установлена тестом на извлечение и разведение.

	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Концентрация нг/мл	1,32	3,59	7,79
Средн. извлечение	100,8	101,8	106,9
Диапазон извлечения, %	от 89,0 до 103,8	92,3 до 109,8	98,5 до 112,3

5. Линейность

	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Концентрация нг/мл	2,63	7,18	15,58
Средн. извлечение	98,2	99,7	100,2
Диапазон извлечения, %	от 86,3 до 107,9	90,4 до 106,8	96,4 до 103,7

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Лабораторная практика требует, чтобы контроли тестировались для каждой калибровочной кривой. Необходимо точное количество контролей для установления средних значений и приемлемых границ для проверки характеристик набора. Мы рекомендуем использовать BIO RAD Lyphochek Immunoassay Control Sera, что предлагается DRG.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97,
 г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: +38 (0342) 77 51 22
 Тел/факс: +38 (0342) 77 56 12
 E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com