

**ESTRADIOL
ЕСТРАДИОЛ (E2)****ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО
ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА ЕСТРАДИОЛ В СЕРУМ ИЛИ
ПЛАЗМА.****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Концентрацията на естрадиол е обратно пропорционална на наситеността на получения при реакцията цвят на пробата. Абсорбцията се измерва спектрофотометрично при 450 nm.

РЕАГЕНТИ

1. IgE-Coated Microtiter, 96 Wells
2. Estradiol Reference Standards: 0, 10, 30, 100, 300, 1000 pg/ml, течни, готови за употреба, 0.5 ml всеки
3. Rabbit Anti-Estradiol Reagent, 7 ml
4. Estradiol -HRP Conjugate Reagent, 12 ml
5. Estradiol Control 1, 0.5 ml, течен, готов за употреба
6. Estradiol Control 2, 0.5 ml, течен, готов за употреба
7. TMB Reagent, 11 ml, готов за употреба
8. Stop solution (1N HCl), 11 ml.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Внимание: Този тест съдържа човешки материал. Източникът на този материал е тестван отрицателен за HbsAg, HIV1/2 и HCV, но никой наличен метод не може да гарантира напълно отсъствието им. Следователно третирайте всички кръвни продукти и проби като потенциално заразни. Спазвайте националните разпоредби за работа с биологично опасни материали.
2. Не използвайте реактивите след изтичане на срока на годност и не смесвайте компоненти от кутии с различен партиден номер.
3. Не използвайте реактива, ако е станал замърсен и мътен.
4. Не използвайте ереактива, ако шишенцето е пукнато или повредено.
5. Веднага поставйте капачките и не разменяйте капачките на различни шишенца.
6. Всяка ямка може да се използва само веднъж.
7. Не пипетирайте с уста.
8. Разтвори съдържащи добавки или консерванти, например натриев азид не трябва да се използват при ензимни реакции.
9. Избягвайте контакт с 1N HCl – може да причини дразнене или изгаряне на кожата. В случай на контакт измийте обилно с вода и потърсете лекарска помощ, ако дразненето продължи.
10. Само за ин витро диагностична употреба.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Трябва да се използва серум, приготвен по стандартните лабораторни техники. Не е необходима никаква специална подготовка на пробите. Пробите могат да се съхраняват при 2-8°C до 48 часа. За по-дълги периоди на съхранение трябва да се замразят до -20°C. Не използвайте силно хемолизирани, липемични или мътни проби. Не използвайте проби съдържащи натриев азид.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА ТЕСТА

Неотворените тестове трябва да се съхраняват при 2-8°C в затворената си опаковка с торбички поглъщащи влагата, за да се сведе до минимум излагането на влажен въздух. Отворените тестове остават стабилни до изтичане на срока на годност, ако се съхраняват както е описано по-горе. Тестовите могат да се използват на апарат с ширина на честотната лента 10 nm или по-малка, оптична плътност 0-3 OD или повече при 450 nm дължина на вълната.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

1. Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура преди употреба.
2. Завъртете леко шишенцата за да се размесят. Не предизвиквайте разпенване.
3. Проби с очаквани стойности на естрадиол над 1000 pg/ml могат да се разреждат преди да се изследват.

БЕЛЕЖКИ ПО ПРОЦЕДУРАТА

1. Мануално пипетиране: Препоръчва се да не изследвате едновременно повече от 32 ямки. Пипетирането на всички стандарти, проби и контроли трябва да се извърши в рамките на 3 минути.
2. Автоматично пипетиране: Може да се пусне цяла плака с 96 ямки наведнъж. Но се препоръчва пипетирането на всички стандарти, проби и контроли да се извърши в рамките на 3 минути.
3. Всички стандарти, проби и контроли, които се пускат в дублиращо измерване трябва да се пускат едновременно, за да са поставени при еднакви условия.
4. Препоръчва се всички ямки да бъдат отчетени до 15 минути след досбяването на Stop Solution.

ПРОЦЕДУРА

1. Поставете желаните брой гнезда в носача.
2. Пипетирайте 25 µl от стандартите, пробите и контролите в съответните гнезда.
3. Пипетирайте 100 µl от Estradiol -HRP Conjugate Reagent във всяко гнездо.
4. Пипетирайте 50 µl от Rabbit Anti-Estradiol Reagent във всяко гнездо.
5. Разбъркайте добре 30 секунди. Много е важно доброто размесване на този етап.
6. Инкубирайте при стайна температура 18-25 °C 90 минути.
7. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с гнездата в контейнер за отпадъци. Измийте гнездата с дестилирана или дейонизирана вода 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате гнездата. Изпийте рязко гнездата върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
8. Пипетирайте 100 µl от TMB Reagent във всяко гнездо. Леко разбъркайте 5 секунди.
9. Инкубирайте при стайна температура 20 минути.
10. Спрете реакцията като добавите 100 µl Stop Solution във всяко гнездо.
11. Леко разбъркайте 30 секунди. Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.
12. Отчетете абсорбцията при 450 nm с ELISA апарат до 15 минути.

ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средната абсорбция (A_{450}) за всеки комплект стандарти, контроли и проби на пациенти.
2. Конструирайте стандартна крива въз основа на абсорбцията и концентрацията на всеки референтен стандарт.
3. Използвайте средната стойност на абсорбцията за всяка проба, за да определите съответната концентрация на естрадиол в pg/ml от стандартната крива.
4. Стойностите, получени от разреждени проби трябва да се конвертират като се умножат по съответния фактор на разреждане.

ПРИМЕР ЗА СТАНДАРТНА КРИВА

Дадената като пример стандартна крива може да служи само като илюстрация и не трябва да се използва при изчисление на неизвестни проби. Всяка лаборатория трябва да получи свои собствени данни и стандартна крива.

Естрадиол (pg/ml)	Абсорбция (450nm)
0	2.500
10	2.155
30	1.664
100	1.296
300	0.837
1000	0.440

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА

Всяка лаборатория трябва да установи свой собствен диапазон от очаквани стойности.

Мъже <60 pg/ml

Жени
след менопауза <18 pg/ml
в овулация

ранна фоликуларна фаза 30-100 pg/ml
късна фоликуларна фаза 100-400 pg/ml
лутеална фаза 60-150 pg/ml
бременни до 35 000 pg/ml

деца преди пубертет <10 pg/ml

Минималното ниво на естрадиол, което този тест може да открие е 10 pg/ml.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

1. Надеждни и възпроизводими резултати ще се получат ако описаната процедура е напълно разбрана и правилно изпълнена.
2. Процедурата с миенето е от критично значение. Недостатъчно доброто измиване ще повлияе на точността и ще доведе до фалшиво високи стойности на абсорбцията.
3. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
4. Резултатите от теста трябва да се използват само като една съставна част от диагностичната процедура, при която лекарят трябва да вземе пред вид цялата налична информация.

Re:070507

Производител: BioCheck Inc., 323 Vintage Park Drive, Foster City, CA94404, USA
Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1