

Инструкции по использованию
ELISA



LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co.KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

Instructions for use

**Инструкция по применению свободный эстриол
ELISA**

FR E-2100

ВВЕДЕНИЕ

Использование по назначению

Свободный эстриол ELISA является иммуноферментным анализом для количественного IN VITRO диагностического измерения свободного эстриола (неконъюгированного эстриола) в сыворотке крови во время второй половины беременности.

Краткое описание и объяснение

Эстриол (ЕЗ) является основным эстрогеном, образованным фетоплацентарной единицей во время беременности. Неконъюгированный ЕЗ проходит через плаценту в материнский кровоток, где он быстро превращается в глюкоронид и производные сульфата для облегчения его выведения. Половина жизни эстриола в материнской крови только 20-30 минут.

Поэтому предлагает удобную и быструю оценку текущего состояния плода. Уровни эстриола в плазме неуклонно растут в течение всей беременности и наиболее быстро в течение третьего триместра (28-40 недель). Внезапное снижение фетоплацентарного производства ЕЗ будет приводит к быстрому падению неконъюгированного ЕЗ в материнской сыворотке крови. Есть несколько потенциальных преимуществ в измерении неконъюгированного ЕЗ, а не общей сыворотки ЕЗ в моче. Уровни неконъюгированного эстриола свободны от эффектов, связанных с материнской почечной или печеночной болезнями и не изменяются при введении определенных антибиотиков. Неконъюгированный ЕЗ более точно отражает эмбриональный исход беременности у больных сахарным диабетом - гидролиз неконъюгированного ЕЗ не требуется, более быстрый поворот для результата теста возможен.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Набор Free Эстриол ELISA представляет собой твердофазный фермент твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), основанный на принципе конкурентного связывания. Лунки микропланшета покрыты поликлональными [кролик] антителами, направленными в сторону антигенного сайта на Эстриол молекулы. Эндогенный Эстриол образца пациента конкурирует с эстриол-пероксидазой хрена конъюгатом для связывания с антителом с покрытия. После инкубации несвязанный конъюгат вымывается. Количество связанного конъюгата пероксидазы является обратно пропорциональным концентрации эстриола в образце. После добавления раствора субстрата, тон интенсивности окрашивания обратно пропорционален концентрации эстриола в образце пациента.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Этот набор предназначен только для диагностики в лабораторных условиях. Только для профессионального использования.
2. Все реагенты данного набора, содержащие человеческую сыворотку или плазму были протестированы и были признаны безопасными для анти-ВИЧ-I / II, HBsAg и HCV FDA . Тем не менее, присутствие этих или других инфекционных агентов не может быть исключено абсолютно и поэтому реагенты следует рассматривать как потенциально инфицированные в использовании и для утилизации.
3. Перед началом анализа внимательно прочтите инструкцию полностью и внимательно. Используйте действующую версию инструкции, входящую в комплект. Убедитесь, что все понятно.
4. Микропланшет содержит отламывающиеся полоски. Неиспользованные лунки следует хранить при температуре от 2 ° С до 8 ° С в запечатанном пакете из фольги и использовать в предоставленном держателе.
5. Раскапывание образцов и реагентов должно быть сделано так быстро, насколько это возможно и в той же последовательности для каждого шага.
6. Используйте резервуары только для отдельных реагентов. Это особенно относится к резервуару субстрата. Употребление резервуара для дозирования раствора субстрата,

- который ранее использовался для раствора конъюгата , может окрасить раствор . Не вливайте реагенты обратно в ампулы(флаконы), может произойти загрязнение реагентов.
7. Смешайте содержимое лунок микропланшета тщательно, чтобы обеспечить хорошие результаты испытаний. Не используйте повторно лунки
 8. Не позволяйте лункам высохнуть; добавляйте реагенты немедленно после завершения стадии ополаскивания.
 9. Разрешить реагентам нагреться до комнатной температуры (21 ° C до 26 ° C) до начала испытания. Температура будет влиять на показания оптической плотности анализа. Тем не менее, значения для образцов пациентов не будут затронуты
 10. Избегать контакта реагентов с кожей и слизистыми оболочками.
 11. Не курить, не есть, не пить , не применять косметику в области , где образцы или реагенты набора хранятся.
 12. Используйте одноразовые латексные перчатки при работе с образцами и реагентами. Микробное загрязнение реагентов или образцов может давать ложные результаты.
 13. . Обращение должно быть проведено в соответствии с процедурой определенной соответствующим национальным законодательством об опасных биологических отходах и правилами техники безопасности
 14. Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетках .
 15. Все указанные объемы должны быть выполнены согласно протоколу. Оптимальные результаты испытаний могут быть получены только при использовании калиброванных пипеток и ИФА анализатора.
 16. Не следует смешивать или использовать компоненты из наборов с разными номерами лотов. Рекомендуется не обменивать лунки из различных пластин даже одного и того же лота. Наборы могли быть отправлены или сохранены в разных условиях и связывающие характеристики пластин могут немного отличаться.
 17. Избегать контакта с Стоп-раствором, содержащим 0,5 М Н 2SO4, так как это может вызвать раздражение кожи и ожоги.
 18. Некоторые реагенты содержат Проклин 300, БНД и / или MIT в качестве консервантов. При попадании в глаза или на кожу, немедленно промойте водой.
 19. ТМВ субстрат имеет раздражающее действие на кожу и слизистую оболочку. В случае возможного контакта, промойте глаза с обильным количеством воды и кожу с мылом и обильным количеством воды. Промыть загрязненные объекты перед повторным использованием. При вдыхании вывести человека на свежий воздух.
 - 20.. Химикаты и приготовленные или использованные реагенты должны рассматриваться как опасные отходы в соответствии с национальным законодательством об опасных биологических отходах и правилами техники безопасности
 21. Для получения информации об опасных веществах, включенных в комплект, пожалуйста, обратитесь к Паспорту безопасности. Паспорта безопасности для данного продукта можно получить по запросу непосредственно у производителя.

РЕАГЕНТЫ

Реагенты предоставленные

FR E-2131 Микропланшет

12x8 (разламываемые) полоски, 96 лунок; Лунки покрыты анти-эстриол антителом (поликлональным).

стандарты

готовы к использованию

	Каталожный №	Стандарт	Концентрация	Объем/колба
STANDART A	FR E 2101	STANDART A(0)	0 нг/мл	1 мл
STANDART B	FR E 2102	STANDART B(1)	0,3 нг/мл	1 мл
STANDART C	FR E 2103	STANDART C (2)	1.2нг/мл	1 мл
STANDART D	FR E 2104	STANDART D (3)	4.0 нг/мл	1 мл
STANDART E	FR E 2105	STANDART E (4)	15 нг/мл	1 мл

STANDART F	FR E 2106	STANDART F (5)	40 нг/мл	1 мл
------------	-----------	----------------	----------	------

Control 1

FR-E 2151 Низкий контроль

1 флакон, 1 мл, готов к использованию;

Для получения контрольных значений и диапазонов, пожалуйста, обратитесь к этикетке флакона или QC-Техническому паспорту; содержит нертутный консервант.

Control 2

FR E-2152 Высокий контроль

1 флакон, 1 мл, готов к использованию;

Для получения контрольных значений и диапазонов, пожалуйста, обратитесь к этикетке флакона или QC-Техническому паспорту; содержит не ртутный консервант.

CONJUGATE

FR E-2140 Ферментный конъюгат

1 флакон, 14 мл, готов к использованию; Эстриол, конъюгированный с пероксидазой хрена; содержит нертутный консервант.

SUBSTRATE

FR E-0055 Раствор субстрата

1 флакон, 14 мл, готов к использованию; Тетраметилбензидин (ТМБ).

STOP-SOLN

FR E-0080 Стоп-раствор

1 флакон, 14 мл, готов к использованию; содержит 0,5 М H₂SO₄.

Избегать контакта со стоп-раствором. Это может вызвать раздражение кожи и ожоги.

WASH-CONC 40C

FR E-0030 Раствор для промывки

1 флакон, 30 мл (40X концентрированный); смотрите раздел «Приготовление реагентов».

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

Необходимые материалы, не включенные в набор

-Ридер микропланшетов калиброванный (450 ± 10 нм)

- Калиброванные микропипетки.

- Абсорбирующая бумага.

- Дистиллированная или деионизированная вода

- Таймер

- Полу- логарифмическая миллиметровая бумага или программное обеспечение для обработки данных

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

При хранении при температуре от 2 ° С до 8 ° С неоткрытые реагенты сохраняют активность до истечения срока годности. Не используйте реагенты после этой даты.

Вскрытые реагенты должны храниться при 2 ° С до 8 ° С. Микропланшет должен храниться при 2 ° С до 8 ° С. После открытия пакета из фольги следует его снова плотно закрыть.

Открытые наборы сохраняют активность в течение двух месяцев при хранении, как описано выше.

Подготовка реагентов

Все реагенты и необходимое количество полосок нагрейте до комнатной температуры перед

использованием.

Промывочный раствор

Добавьте деионизированной воды к 40x концентрированного Wash Solution.

Развести 30 мл концентрированного промывочного раствора с 1170 мл деионизированной воды до конечного объема 1200 мл. Разбавленный промывочный раствор стабилен в течение 2 недель при комнатной температуре.

Утилизация набора

Утилизация набора должна производиться в соответствии с национальными правилами. Специальная информация для данного продукта приведена в паспорте безопасности.

Поврежденные наборы

В случае серьезного повреждения набора или его компонентов, изготовитель должен быть проинформирован в письменном виде, не позднее, чем через неделю после получения набора. Поврежденные компоненты не должны использоваться для испытаний.

Они должны быть сохранены до принятия окончательного решения. После этого они должны быть расположены в соответствии официальным предписаниям.

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА

Сыворотку следует использовать в данном анализе.

Не следует использовать гемолитические, желтушные или липемические образцы.

Обратите внимание: Образцы, содержащие азид натрия, не должны использоваться в анализе.

Сбор образцов

Сыворотка:

Собрать кровь из вены, дать свернуться, отделить сыворотку центрифугированием при комнатной температуре. Не центрифугировать до полного свертывания. Пациенты, получающие антикоагулянтную терапию могут потребовать увеличения времени свертывания крови.

Образцы Хранение и подготовка

Образцы должны быть заблокированы и могут храниться в течение 4 дней при температуре от 2 ° C до 8 ° C до проведения анализа.

Образцы, хранящиеся в течение более длительного времени (не менее одного года) должны быть заморожены только один раз при -20 ° C до анализа. Талые образцы должны быть инвертированы несколько раз перед тестированием.

Разведение образцов

Если в исходном анализе оказывается, что образец содержит более чем самый высокий стандарт, образцы следует разбавить Стандартом А и исследовать повторно, как описано в Процедуру анализа.

Для вычисления концентрации этот фактор разбавления необходимо учитывать.

Пример:

а) разбавление 1:10: 10 мкл сыворотки + 90 мкл Стандарт А (тщательно перемешать)

б) разбавление 1: 100: 10 мкл разведения а) 1:10 + 90 мкл Стандарт А (тщательно перемешать).

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Основные замечания

- Все реагенты и образцы должны иметь возможность нагреться до комнатной температуры перед использованием. Все реагенты должны быть перемешаны без образования пены.
- После начала теста все шаги должны быть завершены без перерыва.
- Используйте новые пластиковые пипетки для каждого стандарта, контроля или образца для избежания перекрестного загрязнения.
- Абсорбция является функцией времени инкубации и температуры. Перед началом анализа рекомендуется подготовить все реагенты, снять крышки, все необходимые лунки обеспечены в держателе и т.д. Это обеспечит равное время для каждого раскапывания без остановок.
- Как правило, ферментная реакция линейно пропорциональна времени и температуре

ТЕСТ ПРОЦЕДУРА

Каждый прогон должен включать в себя стандартную кривую.

1. Закрепить необходимое количество лунок в держателе рамы.
2. Разлить по 10 мкл каждого стандарта, контроля и образцов новыми одноразовыми наконечниками в соответствующие лунки.
3. Внесите 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Тщательно перемешать в течение 10 секунд. Важно добиться полного смешивания на этом этапе.
4. Инкубировать в течение 60 минут при комнатной температуре.
5. Резко вытряхнуть содержимое лунок. Промыть лунки 4 раза разведенным раствором для промывки (400 мкл на лунку), удаляя остатки влаги абсорбирующей бумагой

Важное замечание:

Чувствительность и точность этого анализа зависит от правильного исполнения промывочной процедуры

6. Добавьте 100 мкл раствора субстрата в каждую лунку.
7. Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре.
8. Остановить ферментативную реакцию добавлением 100 мкл стоп-раствора в каждую лунку.
9. Определить оптическую плотность (ОП) каждой лунки при 450 ± 10 нм с помощью ИФА ридера. Рекомендуется, чтобы лунки были считаны в течении 10 минут после добавления стоп-раствора.

Подсчет результатов

1. Подсчитать средние значения оптической плотности для каждого набора стандартов, контроля и образцов пациентов.
2. Используя полу-логарифмическую миллиметровую бумагу, построить стандартную кривую, откладывая средние значения абсорбции от каждого стандарта против его концентрации со значением оптической плотности на вертикальной (Y) оси и концентрация на горизонтальной оси (X) оси.
3. Используя среднее значение абсорбции для каждого образца определить соответствующую концентрацию из стандартной кривой.
4. Автоматический метод: Результаты, приведенные в инструкции по эксплуатации были

рассчитаны автоматически с использованием 4 Параметр кривой подходит. (4 Параметр Rodbard или 4 параметра Марквардт являются предпочтительными методами.) Другое функции обработки данных могут давать несколько отличающиеся результаты.

5. Концентрацию образцов можно считать непосредственно со стандартной кривой. Образцы с концентрацией выше, чем у самого высокого стандарта, необходимо разводить или сообщаться в виде > 40 нг / мл. Для вычисления концентрации этот фактор разбавления необходимо учитывать.

Пример типичной стандартной кривой

Следующие данные приведены только для демонстрации и не могут быть использованы вместо данных, полученных в момент Анализа

Стандарты	Оптические единицы (450 нм)
Стандарт А (0 нг/мл)	1.79
Стандарт В (0.3 нг/мл)	1.48
Стандарт С (1.2 нг/мл)	1.18
Стандарт D (4 нг/мл)	0.81
Стандарт Е (15 нг/мл)	0.52
Стандарт F (40 нг/мл)	0.38

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ НОРМАЛЬНЫЕ

Настоятельно рекомендуется каждой лаборатории определить свои собственные нормальные и ненормальные значения.

Нормальные здоровые взрослые

В исследовании, проведенном с видимо нормальными здоровыми взрослыми, с использованием свободного эстриола ИФА следующие значения наблюдаются:

Население	Действительный N	5% процентиль[ng/ml]	95% процентиль[ng/ml]
Мужчины	42	0.146	0.573
Женщины (не беременные)	43	0.057	0.822

Результаты сами по себе не должны быть единственной причиной для любых терапевтических последствий. Результаты должны быть соотнесены с другими клиническими наблюдениями и диагностическими тестами.

Значения во время беременности

(p/m=после менструации)

Неделя	Ожидаемый	Неделя	Ожидаемый	Беременность
--------	-----------	--------	-----------	--------------

беременности p/m	диапазон (Нг / мл)		беременности p/m	диапазон (Нг / мл)	близнецы
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 - 39	-

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Измерение эстриола (Е3) в жидкостях организма в рабочем порядке были использованы для мониторинга и управления благополучием плода, особенно у беременных пациенток высокого риска. Концентрация Е3 в плазме возрастает постепенно в течение первых 20 недель беременности и более быстрыми темпами в течение третьего триместра. Поскольку диапазоны для нормальной и ненормальной сыворотки конъюгированного Е3 широко и значительно перекрывают друг друга, одно определение Е3 имеет мало значения. Пациент должен контролироваться часто для установления какой-либо индивидуальной тенденции. Последовательно низкий уровень или внезапное и постоянное снижение сывороточного Е3 в третьем триместре является с высокой степенью вероятности свидетельством дистресса плода и, возможно, внутриутробной смерти. Когда такие наблюдения сделаны, статус плода следует оценивать с помощью альтернативных методов.

Интерпретация сывороточных уровней неконъюгированного Е3 должна быть сделана в сочетании с другими клиническими испытаниями или диагностическими процедурами, такими как амниоцентез и ультразвук. Субнормальные уровни Е3 также может наблюдаться у пациентов, которые принимают некоторые антибиотики или кортикостероиды или у пациентов с нарушением функции печени матери.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Хорошая лабораторная практика требует, чтобы контроль выполнялся с каждой калибровочной кривой. Статистически значимое количество контроля следует анализировать, чтобы установить средние значения и допустимые диапазоны для обеспечения надлежащего представления. Рекомендуется использовать контрольные образцы в соответствии с государственными и федеральными нормативами. Использование контрольных образцов рекомендуется обеспечить изо дня в день для достоверности результатов. Используйте контроли как на нормальном так и на и патологическом уровнях. Контроли и соответствующие результаты лаборатории QC указаны в сертификате, QC сертификат добавляется к набору. Значения и диапазоны, указанные на листе QC всегда относятся к текущему лоту набора и должны использоваться для прямого сравнения результатов.

Также рекомендуется использовать национальные или международные программы оценки качества для того, чтобы обеспечить точность результатов.

Соответствующие статистические методы для анализа контрольных значений и тенденций. Если результаты анализа не соответствуют установленным допустимым диапазонам

контрольных материалов, результаты пациента должны быть признаны недействительными. В этом случае, пожалуйста, проверьте следующие технические аспекты: приборы для прокапывания; фотометр, истечение срока действия даты реагентов, хранения и условий инкубации, аспирации и методов промывки.

После проверки указанных выше пунктов, не находя какие-либо ошибки обратитесь к дистрибьютору или к производителю напрямую.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Анализ динамического диапазона

Диапазон анализа составляет от 0,075 - 40 нг / мл.

Специфичность антител (Перекрестная реактивность)

Следующие вещества были проверены на перекрестную реактивность анализа:

Добавлен стероид	концентрация стероида	OD 450	измеренная концентрация
Эстриол (Е3)	40 нг /мл	0,39	39,67 нг / мл
Тестостерон	16 нг /мл	1,758	н.о
Эстрадиол (Е2)	2 нг /мл	1,579	н.о
Эстрон (Е1)	2 нг /мл	1,712	н.о
Кортизол	800 нг / мл	1,775	н.о

н.о = не обнаружено

Чувствительность

Аналитическая чувствительность ELISA рассчитывали путем вычитания 2 стандартных отклонений от среднего значения 20 Репликаций анализа стандарта А и было установлено, 0,075 нг / мл.

Воспроизводимость

Intra анализ

В пределах анализа вариабельность приведена ниже:

Образец	Кол-во	Среднее (нг / мл)	CV (%)
1	20	2.1	4.7
2	20	6.2	3.2
3	20	14.6	3.0

Inter анализ

Между анализами изменчивость приведена ниже:

Образец	Кол-во	Среднее (нг / мл)	CV (%)
---------	--------	-------------------	--------

1	12	2.1	4.6
2	12	5.7	8.5
3	12	8.5	9.5

Восстановление

Восстановление ELISA определяли путем добавления возрастающих количеств аналита к трем различным сывороткам пациентов, содержащим различные количества эндогенного аналита. Каждый образец (не игольчатый и игольчатый) анализировали и определение концентрации анализируемых образцов рассчитывали по стандартной кривой. Проценты извлечения были определены путем сравнения ожидаемых и измеренных значений образцов.

	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Концентрация нг/мл	1.3	3.6	7.8
Среднее восстановление	100.8	101.8	106.9
Диапазон от восстановления [%] до	89.0	92.3	98.5
	103.8	109.8	112.3

линейность

	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Концентрация нг/мл	2.6	7.2	15.6
Среднее восстановление	98.2	99.7	100.2
Диапазон от восстановления [%] до	86.3	90,4	96.4
	107,9	106,8	103.7

ОГРАНИЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Надежные и воспроизводимые результаты будут получены, когда процедура анализа выполняется с полным пониманием инструкции, вложенной в пакет и с соблюдением надлежащей лабораторной практики. Любое неправильное действие обработки образцов или модификации данного теста могут повлиять на результаты.

Влияющие вещества

Гемоглобин (до 4 мг / мл), билирубин (до 0,125 мг / мл) и триглицерид (до 30 мг / мл) не имеют влияние на результаты анализа.

Влияние лекарств

До сегодняшнего дня неизвестны вещества (лекарства), которые оказывают влияние на измерение эстриола в образце.

Высокая доза-эффект Хука

Хук- эффект не наблюдался в этом тесте.

ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

Достоверность результатов

Испытание должно быть выполнено точно в соответствии с инструкциями изготовителя по применению. К тому же пользователь должен строго придерживаться правил надлежащей лабораторной практики или других применимых национальных стандартов и / или законов. Это особенно актуально для использования контрольных реагентов. Важно всегда включать, в рамках тест-процедуры, достаточное количество контролей для проверки правильности и точности теста.

Результаты испытаний действительны только тогда, когда все элементы управления находятся в пределах указанных диапазонов, и если все остальные параметры испытаний также в рамках, заданных спецификаций анализа. В случае возникновения каких-либо сомнений или беспокойства, пожалуйста, обратитесь к производителю.

Терапевтические последствия

Терапевтические последствия не должны основываться только на одних на результатах лабораторных анализов, даже если все результаты испытаний находятся в соответствии с деталями, как указано в разделе "Достоверность результатов". Любой результат лабораторного исследования является лишь частью общей клинической картины пациента. Только в тех случаях, когда лабораторные результаты находятся в приемлемом согласии с общей клинической картиной, Пациент должен получить терапевтические последствия. Сам результат анализа никогда не должен быть единственным фактором, определяющим для получения каких-либо терапевтических последствий.

Ответственность

Любая модификация тест-набора и / или обмена или смесь любых компонентов различных партий из одного тест-набора к другому может негативно повлиять на ожидаемые результаты и обоснованность общего теста. Такая модификация и / или обмены являются недействительными для любых претензий на замену.

Претензии, поданные в связи с неправильной интерпретации результатов лабораторных исследований с учетом "Терапевтических Последствий" также являются недействительными. Несмотря на это, в случае каких-либо претензий, ответственность производителя не превышает значение тестового набора. Любой ущерб, нанесенный тестовый набор во время транспортировки не относится к ответственности производителя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / ЛИТЕРАТУРА

Bashore, R.A., Westlake, J.R. Плазменные значения неконъюгированного эстриола в высокой беременности риска.

Am. J. Obstet. Gynecol., Июнь 15, 1977, p371-380

Условные обозначения:

 Температура хранения	 Производитель	 Содержит достаточно для <N> испытаний
 Дата окончания срока действия	LOT Код партии	IVD Только для диагностики в лабораторных условиях!



Обратитесь к инструкции по
пользованию

CONT Содержание



Маркировка