

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

## Реагентов для иммунологических исследований

### Подготовка к анализу

1. Перед анализом каждый образец должен быть выдержан при комнатной температуре. и тщательно перемешан.
2. Установите необходимое количество стрипов в рамку из расчета постановки стандартов, образцов и контролей в дублях плюс одна лунка для бланка. Оставшиеся стрипы верните в пластиковый пакет с осушителем и герметично закройте.
3. В лунку Бланк добавьте в соответствующем шаге протокола 100 мкл субстрата и 100 мкл стоп-реагента.
4. Для предотвращения загрязнения субстратного раствора часть раствора, необходимую для анализа, перенесите в чистый пластиковый сосуд, предварительно вымытый этанолом и затем дистиллированной водой высокой очистки.
5. Промывочный раствор готовится смешиванием концентрата с 450 мл дистиллированной воды.

1. Пипеткой добавьте 25 мкл стандартов, контролей и проб пациентов в соответствующие лунки планшета.
  2. Добавьте 200 мкл конъюгата в каждую лунку.
  3. Инкубируйте в течение 120 минут при 37°C не закрывая планшет.
  4. Используя автоматическую или ручную технику промывки планшета, удалите содержимое всех лунок, промойте три раза промывочным буфером. Удалите остатки жидкости. Для данной процедуры рекомендуется автоматическая моющая система.
  5. Немедленно добавьте 100 мкл раствора субстрата в каждую лунку.
  6. Инкубируйте при комнатной температуре (20-28°C) в течение 15 минут.
- Замечание: избегайте попадания прямого солнечного света на планшет во время инкубации.
7. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку в той же последовательности, что и субстрат.
  8. Осторожно перемешайте планшет, избегая разбрызгивания.
  9. Измерьте величины поглощения содержимого ячеек при 450 нм. Измерение микропланшета должно быть произведено в течение 60 минут после добавления останавливающего раствора.

### Замечания по выполнению анализа

1. Не смешивайте реагенты различных серий.
2. Рекомендуется не заменять стрипы стрипами из других планшетов, даже если они одного лота. Наборы могут иметь разные условия отгрузки и хранения, вследствие этого связывающие характеристики планшет могут незначительно различаться.
3. Инкубационное время критично. Следите за окраской.
4. Все реагенты добавляются в том же порядке, что и образцы.
5. Рекомендуется проводить добавление хромогенного раствора и стоп-раствора в лунки в одной и той же последовательности и с одинаковой скоростью.
6. Общее время внесения в лунки планшета стандартов, контролей не должно превышать 15 минут.

### РАСЧЕТ

Рассчитайте среднее значение оптической плотности стандартов и образцов (A). Вычитите Бланк (A<sub>c</sub>) из всех значений.

Пересчитайте результаты по формуле:  $V/V_0 \times 100 = (A - A_c / A_0 - A_c) \times 100$ ,

где A<sub>0</sub> - значение оптической плотности нулевого стандарта.

Используйте значение индекса  $V/V_0 \times 100$  для построения кривой в логарифмических координатах на полулогарифмической бумаге и расчета концентрации эстрадиола.

Результаты могут быть рассчитаны автоматически с использованием аппроксимаций - 4-х параметрической, Сплайны, Logit-Log.

Если полученная концентрация выше высшего стандарта, разведите образец нулевым стандартом и проанализируйте его повторно. Умножьте результат на фактор разведения.