

肾上腺皮质酮检测试剂盒（酶联免疫法）说明书

货号：AC-14F1

【产品名称】

通用名称：肾上腺皮质酮检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：Corticosterone ELA

【包装规格】

96 人份/盒

【预期用途】

仅供科研使用，不能用于临床诊断。本试剂盒应用竞争性酶联免疫分析法（EIA）定量检测大、小鼠血清/血浆中的肾上腺皮质酮。

【概述】

肾上腺皮质酮（4-孕烯醇酮-11,21-二醇-3,20-二酮）由肾上腺皮质分泌，是大、小鼠体内发现的主要糖皮质激素。在循环中大部分肾上腺皮质酮由皮质类固醇结合球蛋白运载。大、小鼠的皮质酮水平与人类皮质中的数量状态相类似，可作为肾上腺功能的指标使用。我们能从促肾上腺皮质激素的释放（促进分泌）和通过地塞米松或垂体切除术（抑制分泌）中观察其反应。在循环中，压力也同样扮演了一个非常重要的角色。压力情形将导致肾上腺皮质酮水平迅速增加，这些压力情形包括温度的改变、实验的刺激或非正常事件的出现。

【检验原理】

本试剂盒应用竞争性酶联免疫分析法，采用抗肾上腺皮质酮多克隆抗体包被于聚苯乙烯微孔板内表层。标准品、质控品和稀释样本与肾上腺皮质酮标记酶（辣根过氧化物酶）在微孔中一同孵育过夜（2-8°C）。洗涤微孔后加入生色底物（TMB）使其生成颜色。加入终止液后在酶标仪上测量吸光度，颜色强度与样本中肾上腺皮质酮的浓度成反比。

【主要组成成份】

1. **CAL 0-6** - 标准品（**REF AC-1401A-AC-1401G**）：

冻干粉状磷酸盐缓冲液，包含肾上腺皮质酮、蛋白和防腐剂。每瓶1 mL，每盒7瓶。

2. **MICROPLAT** - 抗体包被板（**REF AC-1402W**）：

包被多克隆兔抗肾上腺皮质酮抗体于聚苯乙烯微孔内表层的微孔板，12X8孔板条，与干燥剂一同

装于铝箔袋。

3. **ENZYMCONJ** - 酶结合物（**REF AC-1403**）：

冻干粉状磷酸盐缓冲液，包含标记肾上腺皮质酮的辣根过氧化物酶，蛋白质，酶稳定剂和防腐剂。每瓶2 mL。

4. **BUF** - 缓冲液（**REF AC-1403B**）：

磷酸盐缓冲液，包含防腐剂。每瓶12 mL。

5. **CTRL 1-2** - 质控品（**REF AC-1405A - AC-1405B**）：

大、小鼠血清冻干粉复溶于样本稀释液。每瓶1 mL，每盒2瓶。

6. **SUBS** - TMB底物（**REF AC-SUBS**）：

四甲基联苯胺（TMB）和过氧化氢的混合液，每瓶30 mL。

7. **HCL** - 终止液（**REF AC-STOP**）：

0.5M盐酸，每瓶14 mL。

8. **SAMPDIL** - 样本稀释液（**REF AC-1400B**）：

磷酸盐缓冲液，包含马血清、蛋白质和防腐剂，每瓶15 mL。

样本稀释液可能会有轻微的沉淀物，使用前混匀。

9. **WASHBUF 20x** - 浓缩冲洗缓冲液（**REF AC-WASHL**）：

磷酸盐缓冲液，包含吐温，每瓶50 mL。

10. 封板膜

每盒4张。

【储存条件及有效期】

按说明书保存试剂盒则可稳定至有效期。所有试剂在2-8°C下保存。复溶后的标准品**CAL**、质控品**CTRL**和酶结合物在-20°C下可保存8周。未使用的板条须放回装有干燥剂的铝箔袋中，铝箔袋的末端有可供折叠的塑料自封袋。在2-8°C下可保存8个星期。冲洗缓冲液在室温下可保存8周。

【适用仪器】

适用于具有450nm与650nm波长的所有全自动、半自动酶标仪。

【样本要求】

使用血清或血浆（EDTA、肝素或柠檬酸盐抗凝）作为检测样本。采血后应立即进行离心分离。如需长期保存，应储存在-20°C。避免样本反复冻融。

样本稀释

1. 准备试管并做好标记，每个样本对应一个试管。
2. 使用样本稀释液[SAMPDIL]将每个样本至少稀释10倍。

例如：

取30μL未知样本加至相应的试管中。

取270μL样本稀释液[SAMPDIL]加至各试管中。

3. 每个试管均混匀。
不要稀释标准品[**CAL**]或质控品[**CTRL**]。

【检验方法】

1. 自备材料

- 1) 一次性硼硅酸盐玻璃管、聚丙烯或聚苯乙烯塑料试管(12X75mm)。勿重复使用。
- 2) 精密加样器(30μL, 100 μL和 270 μL)。
- 3) 精密多道加样器(100 μL和200 μL)。
- 4) 涡旋混合器
- 5) 全自动洗板机(可选)。
- 6) 酶标仪和数据处理软件。

2. 试剂准备

1) 标准品 [CAL]和质控品 [CTRL]：

标准品 [CAL]和质控品 [CTRL]均以冻干粉形式提供。用1mL蒸馏水或去离子水复溶，盖上盖子在室温下静置10-15分钟，反复颠倒几次确保复溶完全。如果标准品和质控品不止使用一次，应在复溶后尽快冰冻保存(-20℃)。再次使用时，在室温下解冻，并在完全解冻后的15分钟内混匀使用。

2) 酶结合物溶液：

酶结合物 [ENZYMCNJ]是以冻干粉形式提供。将一瓶缓冲液 [BUF]加入至一瓶冻干粉状酶结合物 [ENZYMCNJ]中。盖上盖子在室温下静置10-15分钟，反复颠倒几次确保复溶完全。如果酶结合物不止使用一次，则应在复溶后尽快冰冻保存(-20℃)。再次使用时，在室温下解冻，并在完全解冻后的15分钟内混匀使用。

3) 冲洗缓冲液：

将每瓶浓缩冲洗缓冲液 [WASHBUF 20x]加入到950mL蒸馏水或去离子水中溶解混匀。室温下储存。

其它试剂直接使用。所有试剂在使用之前平衡至室温并反复颠倒数次确保混匀。

3. 检测步骤

- 1) 在抗体包被的微孔板[MICROPLAT]相应孔中加入100 μL标准品[CAL]、质控品[CTRL]和稀释样本。双份检测。
- 2) 用多道加样器取100 μL酶结合物加入至各孔中。
- 3) 用封板膜盖好微孔板并在2-8℃下孵育16-24小

时。

- 4) 用冲洗缓冲液清洗所有微孔三次：
 - a) 全自动洗板机：设定洗板机每孔至少300 μL的冲洗量，进行三次加满和吸干操作。
 - b) 手工洗板：轻微颠倒板架使孔内的液体倒出，每孔加入250 μL冲洗缓冲液，倒出并重复两次。进行下一步操作时，将微孔板倒置于滤纸上轻微拍打，确保除去微孔内多余的冲洗液。
- 5) 用多通道加样器取200 μL TMB底物[SUBS]加入至各孔中。
注意：TMB底物易受污染，每次取出所需量即可，勿将未用尽的TMB底物倒回瓶中。
- 6) 在18-25℃下孵育30分钟。
- 7) 用多通道加样器取100 μL终止液[HCL]加入至各孔中。
- 8) 加入终止液后的30分钟内，使用酶标仪在405 nm波长处(参考波长650 nm)测量所有孔的吸光度。

质量控制

建议使用不同分析水平的质控品评估结果的日间差异，以确保每天的结果在可接受范围内。试剂盒提供两瓶质控品。质控品应作为待测样本进行检测。应绘制质量控制图以监控检测性能。

【参考值(参考范围)】

鉴于肾上腺皮质酮水平因取样和检测技术不同而差别甚大，建议每个实验室建立自己的正常参考范围。

检测16个正常大/小鼠血清/血浆样本后得出肾上腺皮质酮的浓度范围：23-363ng/mL。

【检验结果的解释】

1. 结果计算

按以下公式计算每个标准品、质控品和样本的结合百分数(B/Bo%)：

$$B/Bo\% = \frac{\text{(平均吸光度值)}}{\text{标准品0的平均吸光度值}} \times 100$$

在半对数坐标轴上，以每个标准品的B/Bo%为纵坐标，其肾上腺皮质酮浓度为横坐标描点并绘出标准曲线。计算每个样本的B/Bo%值并从标准曲线上读取结果，以单位ng/mL给出。

为得到各样本中肾上腺皮质酮的浓度，将读得的结果乘以稀释倍数。

多种数据处理方法可供选择，但应确保所选曲线恰当并给出正确的结果。推荐使用平滑样条曲线或4PL曲线。

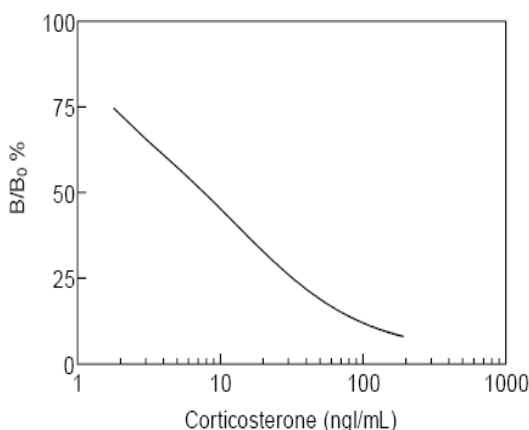
2. 样本分析数据

以下数据仅供举例，不能用于任何样本结果的计算。

孔	描述	吸光度	平均吸光度	B/Bo %	结果 ng/mL
A1, A2	标准品 0 0 ng/mL	2.172 2.183	2.178		
B1, B2	标准品 1 1.8 ng/mL	1.533 1.577	1.555	71.4	
C1, C2	标准品 2 4.2 ng/mL	1.133 1.260	1.197	56.0	
D1, D2	标准品 3 10.6 ng/mL	0.761 0.812	0.787	36.1	
E1, E2	标准品 4 28.2 ng/mL	0.478 0.476	0.477	21.9	
F1, F2	标准品 5 75.0 ng/mL	0.277 0.266	0.272	12.5	
G1, G2	标准品 6 186 ng/mL	0.159 0.154	0.157	7.2	
H1, H2	样本1	1.104 0.963	1.034	47.5	6.3
A3, A4	样本2	0.422 0.410	0.416	19.1	33.3

3. 典型标准曲线：

本标准曲线仅供参考。



【检验方法的局限性】

通过测试发现以下物质在一定浓度范围内不会对本试剂盒检测产生干扰：血红蛋白浓度小于1470mg/dL。

【产品性能指标】

1. 灵敏度

灵敏度为重复检测0标准品20次的均值减去两

个标准差所得，其值为0.55ng/mL。

2. 精密度

批内检测 平均值 (ng/mL)	n=10 %CV	批间检测 平均值 (ng/mL)	n=25 %CV
4.6	4.9%	4.7	7.8%
10.8	6.6%	10.5	8.6%
20.6	4.5%	19.3	7.5%
45.7	3.8%	45.2	7.7%

3. 回收率

通过在样本中加入肾上腺皮质酮进行回收实验。

样本浓度 ng/mL	加入皮质酮 ng/mL	测量 ng/mL	回收 ng/mL	回收%
64	200	257	193	97%
506	100	628	122	122%
55	200	224	169	85%
65	200	247	182	91%
430	200	626	196	98%
			平均值	99%

4. 线性

使用样本稀释液稀释样本后进行线性检验。

样本	测量值(M) ng/ml	预期值(E) ng/ml	% M/E
A/10	36.1		
A/20	16.8	18.1	93%
A/40	8.1	9.0	90%
B/10	13.3		
B/20	7.2	6.7	107%
B/40	3.9	3.3	118%
C/10	30.8		
C/20	14.8	15.4	96%
C/40	7.2	7.7	94%
		平均值	100%

5. 特异性

以下分析物与0标准品结合50%的情况下，检测抗血清的特异性。

分析物	交叉反应
11-胆皮质酮	6.60%
11-去氧皮质酮	5.93%
孕酮	1.39%
皮质醇	0.85%
21-去氧皮质醇	0.60%
5-孕-3, 20-酮	0.34%
四氢可的松	0.21%

地赛米松	<0.07%
DHEA	0.07%
强的松	<0.07%
孕醇	<0.07%
20-羟基孕酮	<0.07%
4-孕-20-ol-3-one	<0.06%
雌三醇	<0.06%
雌二醇	<0.06%
雌酮	0.06%
17-去氧雌酮	<0.05%
可的松	0.05%
睾丸激素	0.02%
11-去氧皮质醇	0.02%
醛固酮	0.02%
17-去氧孕酮	0.01%
四氢皮质醇	0.01%

【注意事项】

1. 本试剂盒仅供科研使用，不能供人类或动物体内使用。该产品必须严格遵照产品说明书操作。否则对于任何原因导致的损害，IDS公司概不负责（法令规定除外）。
2. 试剂盒包含人类或动物源物质。处理试剂时应将其作为传染性物质处理。使用和处理试剂时，对于试剂盒的保存必须有适当的预防措施和良好的实验室操作习惯。处理试剂时应按当地的规定程序处理。
3. **0.5M 盐酸**
终止液包含0.5M的盐酸。
R36/38 刺激眼睛和皮肤；
S26 如果接触到眼睛，马上用大量水冲洗并寻求医生建议；
S36/37穿戴合适的防护服和防护手套。
4. **四甲基联苯胺**
TMB底物含3,3',5,5'-四甲基联苯胺。
R21/22 皮肤接触或吞咽有害。
S36/37穿戴合适的防护服和防护手套。
5. **试剂可能变质的迹象**
任一试剂内出现异常颗粒物质，除样本稀释液外[SAMPDIL]。
标准品0的吸光度下降。
标准曲线的斜率偏离正常位置。

【参考文献】

1. Corker C.S. Karolinska Symposia on Research Methods in Reproductive Endocrinology : Steroid Assay by Protein Binding. E. Diczfalusy, ed., p 153 (1970).
2. Keith L. D., Winslow J. R. and Reynolds R. W.

Steroids, 31: 523 (1978).

3. Shimizu K., Amagaya S. and Ogihara Y. : Analysis of Corticosterone in the serum of mice and rats, using high performance liquid chromatography. J. Chromatography, 272: 170
4. Vining R.F., James D. E., Bennett S. P. and Kraegen E. W. Steroids, 38: 297 (1981)

【生产企业】

生产者名称：英国 Immunodiagnostic Systems Limited(IDS Ltd)

生产者/生产场所地址：10 Didcot Way,Boldon Business Park,Boldon,Tyne&Wear,NE35 9PD,UK

电话：+44 (0) 191 519 0660

传真：+44 (0) 191 519 0760

网址：www.idsltd.com

售后服务机构：北京荣志海达生物科技有限公司

地址：北京市海淀区永定路 88 号长银大厦 12 层 B12 室

电话：010-58895646 020-32293178

传真：010-58895611 020-32293177

电子邮箱：info@rz-biotech.com

网址：www.rz-biotech.com

【医疗器械注册证书编号】

【产品标准编号】

【说明书批准及修改日期】

仅供参考，请以原版英文说明书为准！