

## НАБІР РЕАГЕНТІВ

# ЗАГАЛЬНИЙ ЕСТРІОЛ ELISA

## Estriol Total ELISA

Каталог. №: **EIA-3717**  
Кількість: **96**

Дата випуску інструкції: **2019/03**  
Версія **9.0**



Основною при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

### 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Конкурентний імуоферментний колориметричний метод для кількісного визначення концентрації Загального Естріолу у людській сироватці або плазмі.

Набір призначений тільки для лабораторного використання.

#### 1.1. Клінічне значення

Естріол (також оестріол) - один з трьох основних естрогенів, що виробляються людським організмом. У значній кількості він виробляється лише під час вагітності, так як це робиться плодом.

Під час вагітності вироблення естріолу залежить від неушкодженої материнсько-плацентарно-плодової одиниці. Фетально-плацентарне виробництво естріолу призводить до прогресуючого зростання рівнів кровообігу у матері, яка досягає пізньостатевого піку в кілька разів більше, ніж у невагітних. У материнському кровообігу естріол зазнає швидкої кон'югації в печінці, потім виводиться з сечею з періодом напіврозпаду ~ 20 хвилин. Оскільки, нормальне виробництво естріолу залежить від неушкодженого материнсько-плацентарно-плодового кровообігу та функціонального метаболізму плоду, рівні естріолу у матері використовувались для контролю стану плоду під час вагітності, особливо в третьому триместрі.

ДГЕА виробляється корою надниркових залоз плоду. Плацента перетворює це в естріол.

Якщо рівні у вагітних жінок аномально низькі, це може вказувати на проблеми з розвитком у дитини.

Рівні естріолу у невагітних жінок сильно не змінюються після менопаузи та і суттєво не відрізняються від рівнів у чоловіків.

### 2. ПРИНЦИП

Загальний Естріол (антиген) у зразку конкурує з антигенним естріолом, кон'югованим з пероксидазою хрому (HRP) для зв'язування з обмеженою кількістю антитіл до естріолу покритих на мікропланшеті (тверда фаза). Після інкубації незв'язаний естріол видалається під час промивання. Потім фермент HRP у зв'язаних фракціях вступає в реакцію з і субстратом (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) та ТМБ-субстратом та розвивається синій колір, який змінюється на жовтий після додавання Стоп-розчину (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Інтенсивність кольору обернено пропорційна концентрації загального естріолу у зразку. Концентрація загального естріолу у зразку розраховується на основі серії стандартів.

### 3. РЕАГЕНТИ, МАТЕРІАЛИ ТА ІНСТРУМЕНТАРІЙ

#### 3.1 Реагенти та матеріали, які постачаються у наборі

1. **Стандарти S0 – S4** для Загального Естріолу (5 флаконів, 1мл кожний)
2. **Контролі** для Загального Естріолу (2 флакони, 1 мл)  
Контроль А та Контроль В;  
Концентрація контролів вказана у Сертифікаті аналізу
3. **Ферментний кон'югат** (1 флакон, 22 мл)  
Естріол кон'югований з пероксидазою хрому (HRP)
4. **Мікропланшет** ( 1 роздільний мікропланшет);  
Антитіло до Естріолу абсорбоване на мікропланшеті
5. **Розчин субстрату ТМБ** (1 флакон, 15 мл);  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- ТМБ 0.26 г/л (уникати попадання на шкіру)
6. **Стоп розчин** (1 флакон, 15 мл)  
Містить сірчану кислоту 0.15 моль/л (уникати попадання на шкіру)
7. **Промивний розчин** 10X Конц. (2 флакони, 25 мл);  
0.2 М Фосфатний буфер, рН 7.4

#### 3.2 Необхідні реагенти, які не постачаються:

- Дистильована вода

#### 3.3 Допоміжні матеріали та інструментарій

- Автоматичний дозатор.
- Мікропланшетний зчитувач (450 нм, 620-630 нм)

#### Примітка

Зберігати реагенти при температурі 2-8°C у темному місці.

Відкривати упаковку реагенту 4 (покривний мікропланшет) тільки тоді, коли він досягнув кімнатної температури та негайно закривати після використання. Після відкриття, мікропланшет стабільний до закінчення терміну придатності набору.

Не знімати клейку стрічку з невикористаних стрипів.

### 4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Цей набір призначений для in vitro використання тільки фахівцями. Не для внутрішнього чи зовнішнього застосування людям або тваринам.
- Під час роботи з даними реагентами використовувати відповідне захисне обладнання.
- Дотримуватися Відповідної лабораторної практики (GLP) під час обробки продуктів крові.
- Всі матеріали тваринного походження, які використані у приготуванні набору, отримані від здорових тварин та бичачий білок привезено з країн, де тварини не хворіють на коров'ячий сказ. Тому, з реагентами слід поводитися так, як з потенційно інфекційним матеріалом.
- Деякі реагенти містять невеликі кількості Proclin 300® в якості консерванту. Уникайте попадання на шкіру або слизові.
- ТМБ субстрат містить подразник, який може бути шкідливим при вдиханні, поглинанні або всмоктуванні через шкіру. Щоб запобігти травмі, уникайте вдихання, проковтування та попадання на шкіру та очі.
- Стоп-розчин складається з розведеного розчину сірчаної кислоти. Сірчана кислота отруйна та агресивна, та може бути токсичною при попаданні всередину. Щоб запобігти хімічним опікам, уникайте контакту зі шкірою та очима.
- Уникайте впливу прямого сонячного світла, металів та окисників на реагент ТМБ/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Розчин не заморожувати.
- Цей метод дозволяє визначити Загальний Естріол від 2 нг/мл до 100.0 нг/мл.
- Клінічне значення визначення Естріолу може бути визнано недейсним, якщо пацієнт лікувався природними чи синтетичними стероїдами.

### 5. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Будь ласка, чітко дотримуйтеся послідовності етапів піпетування, передбачених у цьому протоколі. Дані про ефективність були отримані за допомогою використання специфічних реагентів, які перелічені у цій інструкції з використання.
- Всі реагенти слід зберігати у холодильнику при температурі 2°C - 8°C в оригінальному контейнері. Будь-які винятки чітко вказані. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності за умови зберігання та використання як зазначено.
- Дозволити всім компонентам набору та зразкам досягнути кімнатної температури (22-28°C) та добре перемішати перед використанням.
- Не замінювати компоненти набору з різних лотів. Дивитися термін придатності, який надрукований на етикетках упаковки або на флаконах. Не використовувати компоненти набору у яких закінчився термін придатності.
- Якщо ви використовуєте автоматичне обладнання, користувач несе відповідальність за те, що набір був протестований належним чином.
- Неповне або неточне видалення рідини з лунок може вплинути на точність аналізу та / або збільшити фон. Для того, щоб збільшити продуктивність набору на автоматичних системах ІФА, рекомендується збільшити кількість промивань.
- Важливо, щоб час реакції в кожній лунці був незмінним для відтворюваних результатів. Піпетування зразків не повинно тривати більше десяти хвилин, щоб уникнути збоїв в аналізі. Якщо потрібно більше 10 хвилин, дотримуйтесь того ж порядку видачі. Якщо використовуються більше ніж планшет, рекомендується повторити криву реакції на дозу в кожному планшеті.
- Додавання розчину субстрату ТМБ ініціює кінетичну реакцію, яка закінчується після додавання стоп-розчину. Таким чином, ТМБ субстрат та Стоп-розчин потрібно додавати в однаковій послідовності, щоб усунути будь-які відхилення в часі під час реакції.

- Дотримуйтесь вказівок щодо здійснення контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролю та/або змішаної сироватки.
- Максимальна точність потрібна для відновлення та дозування реагентів.
- Мікробіологічно забруднені, високоліпемічні та гемолізовані зразки не можна використовувати в аналізі.
- Зчитувачі планшетів вимірюють вертикально. Не торкатися нижньої частини пробірок.

## 6. ПРОЦЕДУРА

### 6.1 Підготовка стандарту та контролів

Перед використанням, перемішувати протягом 2 хвилин. Стандарти готові до використання та мають наступні концентрації Тестостерону:

	S0	S1	S2	S3	S4
нг/мл	0	2	20	80	200

Контролі готові до використання.

Після відкриття, стандарти можна зберігати протягом 6 місяців при температурі 2°C - 8°C.

### 6.2 Підготовка промивного розчину

Перед використанням, розбавити вміст кожного флакону «Промивного розчину 10X Конц.» дистильованою водою до кінцевого об'єму 500 мл. Для менших об'ємів дотримуватися співвідношення розведення 1:10. Розведений промивний розчин стабільний протягом 30 днів при температурі 2°C - 8°C.

У концентрованому миючому розчині можна спостерігати наявність кристалів. У такому випадку перемішуйте його при кімнатній температурі до повного розчинення кристалів. Для більшої точності, повністю розведіть баночку концентрованого миючого розчину до 500 мл, також перенісіть кристали, потім перемішуйте до повного розчинення кристалів.

### 6.3 Підготовка зразка

Визначення загального Естріолу можна проводити на людській сироватці або плазмі. Зберігати зразки при температурі -20°C, якщо визначення не проводиться в день забору. Уникати повторного замороження-розмороження зразків.

### 6.4 Процедура

**Довести усі реагенти до кімнатної температури (22°C-28°C) протягом 30 хвилин.**

Наприкінці аналізу, реагенти зберігати при температурі 2°C-8°C, не тримати довго при кімнатній температурі. Невикористані покриті мікролункові стрипи покласти у пакет з фольги разом з осушувачем та зберігати при температурі 2°C-8°C.

Щоб уникнути потенційного мікробного і/або хімічного забруднення, невикористані реагенти не можна класти назад в оригінальну упаковку.

Важливо, проводити визначення у дублікаті, щоб довести точність результатів тесту, приготуйте дві лунки для кожної точки калібрувальної кривої (S0-S4), дві для кожного Контролю, дві для кожного зразка, одну для Бланку.

Реагент	Калібратор	Зразок/контроль	Бланк
Зразок/контроль		20 мкл	
Калібратор C <sub>0</sub> - C <sub>4</sub>	20 мкл		
Кон'югат	200 мкл	200 мкл	
Інкубувати при температурі 37°C. Видалити вміст кожної лунки; тричі промити лунки з 300 мкл розведеного промивного розчину.			
<b>Примітка:</b> під час кожного етапу промивання, обережно потрусіть планшет протягом 5 секунд та видаліть залишки розчину постукавши планшетом по абсорбуючому паперовому рушнику.			
<b>Автоматичний вошер:</b> якщо ви використовуєте автоматичне обладнання, промийте лунки, щонайменше 5 разів.			
Субстрат ТМБ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубувати при температурі 22°C -28°C протягом 15 хвилин у темряві.			
Стоп розчин	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Обережно потрусіть мікропланшет. Зчитайте абсорбцію (E) при 450 нм до референсної довжини хвилі 620-630 нм або до Бланку протягом 5 хвилин.			

## 7. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна аналізувати контролі при нормальному,

Перекладач Романюк Н.П.

високому та низькому рівнях діапазону Загального Естріолу для моніторингу процедури аналізу. Ці контролі слід розглядати як невідомі, а значення будуть визначені у кожній проведеній процедурі тесту. Таблиці контролів якості слід вести для того, щоб слідкувати за продуктивністю реагентів, що постачаються. Для встановлення тенденцій слід використовувати відповідні статистичні методи. Кожна лабораторія повинна встановити допустимі межі ефективності аналізу. Інші параметри, які потрібно моніторити, включають точки перетину 80, 50 та 20% стандартної кривої для перебігу відтворюваності. Крім того, максимальна абсорбція повинна відповідати минулому досвіду. Значне відхилення від встановлених показників може вказувати на непомітні зміни експериментальних умов або деградацію наборів реагентів. Для визначення причини виникнення змін слід використовувати свіжі реагенти.

## 8. РЕЗУЛЬТАТИ

### 8.1 Середнє значення абсорбції

Обчисліть середнє значення абсорбції (Em) для кожної точки стандартної кривої (S0 - S4) та кожного зразка.

### 8.2 Стандартна крива

Визначіть середнє значення абсорбції (Em) Стандартів (S1-S4) відносно концентрації. Проведіть криву через визначені точки. (Напр. Four Parameter Logistic).

### 8.3 Обчислення результатів

Інтерполюйте значення зразків на стандартній кривій, щоб отримати відповідні значення концентрацій виражених у нг/мл.

## 9. РЕФЕРЕНСНЕ ЗНАЧЕННЯ

Концентрації Естріолу у сироватці знаходяться в межах наступних діапазонів:

Тижні	Медіана	Діапазон(нг/мл)
17°	18.0	(10 - 27)
18°	25.9	(14 - 51)
19°	39.5	(26 - 52)
20°	40.0	(27 - 53)
21°	45.6	(24 - 66)
22°	39.2	(25 - 58)
23°	56.1	(27 - 70)
24°	56.3	(28 - 75)
25°	64.3	(29 - 84)
26°	68	(41 - 105)
27°	57.4	(41 - 110)
28°	78.0	(38 - 127)
29°	87	(45 - 146)
30°	75	(45 - 160)
31°	88.0	(50 - 170)
32°	90.5	(46 - 175)
33°	100	(60 - 180)
34°	105.6	(60 - 190)
35°	114.2	(65 - 200)
36°	126.0	(74 - 210)
37°	177.0	(90 - 234)
38°	190.0	(101 - 288)
39°	190.0	(102 - 306)
40°	180.0	(60 - 325)
41°	177.5	(95 - 280)

Будь ласка, зверніть увагу на той факт, що визначення діапазону очікуваних значень для «нормальної» популяції в данім методом залежить від багатьох факторів, таких як специфіка та чутливість використовуваного методу та типу досліджуваної популяції.

Тому, кожна лабораторія повинна розцінювати діапазон, що надається виробником, як загальну ознаку, та виробляти власний діапазон очікуваних значень на основі корінного населення, де працює лабораторія.

## 10. ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 10.1 Точність

#### 10.1.1 Варіація в аналізі

Варіація в аналізі була визначена вимірюваннями реплікантів (16X) трьох різних зразків сироватки в одному аналізі. Варіація в аналізі становить ≤9.9%.

### 10.1.2 Варіація між аналізами

Варіація між аналізами була визначена вимірюваннями реплікантів (10X) трьох різних контрольних сироваток у 10 різних аналізах. Варіація між аналізами становить  $\leq 10.3\%$ .

### 10.2 Достовірність

Відновлення 5.5 – 11 – 22 – 44 нг/мл Естріолу дало середнє значення ( $\pm$ СВ)  $103.02\% \pm 4.45\%$  з відношенням до оригінальних концентрацій.

Тест розведення виконано на трьох сироватках, розведених 2 та 4 рази, дав наступне середнє значення ( $\pm$ СВ)  $107.86\% \pm 3.50\%$

### 10.3 Чутливість

Найнижча концентрація Загального Естріолу, яку можна визначити та розпізнати зі Стандарту 0 становить 1.05 нг/мл при 95% довірчої межі.

### 10.4 Специфічність: перехресний реагент

Перехресна реакція антитіла, обчислена при 50% за методом Абрагама, наведена в таблиці:

Перехресний реагент	Перехресна реакція %
Естріол	100 %
16 епі-естріол	10.5%
15 $\alpha$ ОН-Естріол	7.0 %
Естріол 3 Сульфат	2.0 %
Естрадіол	0.1 %
17 епі-естріол	$<1 \times 10^{-2} \%$
Естріол 3 $\alpha$ Глюкоронат	$<1 \times 10^{-2} \%$
Естріол 16 $\alpha$ Глюкоронат	$<1 \times 10^{-2} \%$
Естрон	$<1 \times 10^{-4} \%$

### 10.5 Специфічність: інтерферуючі речовини

Інтерференцію Білірубину (кон'югованого та некон'югованого), Гемоглобіну та Гліцеридів) досліджували набором ELISA Загальний Естріол:

Речовина	Аналізована конц.	Інтерференція
Білірубін (кон'югований)	0.2 мг/мл	Відсутня
Білірубін (некон'югований)	0.2 мг/мл	Відсутня
Гемоглобін	2 мг/мл	Відсутня
Тригліцериди	6 мг/мл	Відсутня

Інтерференція відсутня; дотримуючись доброї лабораторної практики, рекомендовано уникати використання високо ліпемічних або гемолізованих зразків.

### 10.6 Специфічність: плазма та пробірки для відокремлення сироватки

Зразок	Інтерференція
Пробірка для відокремлення сироватки	Відсутня
ЕДТА плазма	Відсутня
Літій гепаринова плазма	Відсутня
Натрій гепаринова плазма	Відсутня

Інтерференція відсутня.

### 10.7 Кореляція

Новий набір DRG ІФА Загальний Естріол порівнювали зі старим DRG набором ІФА Загальний Естріол. 35 зразків сироватки були проаналізовані.

Крива лінійної регресії була обчислена:

$$y = 1.02x - 1.88$$

$$r^2 = 0.969$$

### 11. ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

Реагенти слід утилізувати відповідно до місцевих правил.

### 12. БІБЛІОГРАФІЯ

1. Fischer-Rasmussen, W., et al Acta Obstet Gynecol. Scand. 60-417 - 420 (1981)
2. Truran, P.L., et al Clin. Chem. 28/12, 2393 (1982)
3. Vining, R. F., et al J. Clin. Endoc. Metab. 56, 454 (1983)
4. Bagger, P.V., et al Acta Obstet Gynecol Scand 60, 187 (1981)
5. Osterman, T.M, et al Clin. Chem. 25(5) 716 (1979)
6. Wisdom, G.B. Clin. Chem. 22 (8) 1243-1255 (1976)

### 13. УСУНЕННЯ НЕСПРАВНОСТЕЙ

#### ПОМИЛКИ/ЙМОВІРНІ ПРИЧИНИ /ПРИПУЩЕННЯ

#### Відсутня колориметрична реакція

- Відсутність реакції після додавання кон'югату
- Забруднення кон'югатів і/або субстрату
- Помилки у проведенні процедури аналізу (напр. випадкове піпетування реагентів у неправильні послідовності або не з того флакону, та ін.)

#### Дуже слабка реакція (дуже низькі ОЩ)

- Неправильний кон'югат (напр. не з оригінального набору)
- Дуже короткий час інкубації, дуже низька температура інкубації

#### Дуже сильна реакція (дуже високі ОЩ)

- Неправильний кон'югат (напр. не з оригінального набору)
- Занадто довгий час інкубації, занадто висока температура інкубації
- Низька якість води для промивного буфера (низький рівень деіонізації)
- Недостатнє промивання (кон'югати повністю не видалені)

#### Незрозумілі результати

- Забруднені піпетки, наконечники або контейнери
- Недостатнє промивання (кон'югати повністю не видалені)

#### Дуже високе значення КВ% в аналізі

- Перед використанням реагенти і/або смужки не були попередньо нагріті до кімнатної температури
- Вошер планшетів не працює належним чином (порада: почистити головку вошера)

#### Дуже високе значення КВ% між аналізами

- Умови інкубації не постійні (час, температура)
- Контролі та зразки недодані одночасно (з однаковими інтервалами) (перевірити порядок піпетування)
- Людський фактор



#### ВИРОБНИК

DRG Instrumente GmbH  
вул. Фраунберг 18, 35039

м. Марбург, Німеччина

Тел: +49(0)64 21/170 00

Факс: +49(0)64 21/17 00 50

[www.drq-diagnostics.de](http://www.drq-diagnostics.de)

e-mail: [drq@drq-diagnostics.de](mailto:drq@drq-diagnostics.de)



#### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25

м. Івано-Франківськ, 76014

тел.: +38 (0342) 775 122

факс: +38 (0342) 775 123

e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)

[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

