

НАБІР РЕАГЕНТІВ ЕСТРІОЛ ВІЛЬНИЙ ІФА

Free Estriol ELISA

Кат. №: EIA-1612

Дата випуску інструкції: 2020-12-17
Версія 14.0



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

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

DRG Естріол Вільний ІФА – це імуноферментний аналіз для кількісного *in vitro* діагностичного вимірювання вільного естріолу (некон'югованого естріолу) у сироватці протягом другої половини вагітності.

Цей набір НЕ призначений для оцінки ризику трисомії 21.

1.1 Короткий опис та призначення

Естріол (Е3) - головний естроген, що утворюється фетоплацентарною одиницею під час вагітності. Некон'югований Е3 проходить крізь плаценту в кровотік матері, де практично відразу переходить в похідні: глюкуронід і сульфат - для посилення екскреції. Період напіврозпаду естріолу в материнському кровотоці становить лише 20-30 хвилин. Його вимірювання дозволяє швидко і зручно оцінити стан плода. Естріол в плазмі монотонно збільшується протягом вагітності, але особливо різко він росте в третьому триместрі (28-40 тижнів). Раптове зниження вироблення фетоплацентарного Е3 призведе до різкого падіння рівня Е3 в сироватці матері. Є кілька переваг вимірювання некон'югованого Е3 перед виміром загального Е3 в сечі або сироватці. Рівні некон'югованого естріолу не залежать від ефектів, пов'язаних з печінковою або нирковою дисфункцією, і не змінюються від прийому антибіотиків. Некон'югований Е3 більш актуально відображає можливість викидня при вагітності з діабетом, і тому, якщо не потрібно гідролізу незв'язаного Е3, то можна швидше отримати результат.

2. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Набір DRG Естріол вільний є імуноферментним аналізом (ІФА), побудований на принципі конкурентного зв'язування.

Мікротитрові лунки покриті поліклональним антитілом (кролик) до антигенних сайтів на молекулі Естріолу. Ендогенний Естріол у зразку пацієнта конкурує з пероксидазою хрому за зв'язування з антитілами на поверхні мікролунок. Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивається. Кількість зв'язаної пероксидази хрому обернено пропорційна концентрації Естріолу в зразку. Після внесення розчину субстрату збільшення інтенсивності кольору обернено пропорційно концентрації Естріолу в зразку пацієнта.

3. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Тільки для діагностичного використання "in-vitro". Для використання тільки кваліфікованим персоналом.
- Всі реагенти цього тест-набору, що містять людську сироватку або плазму протестували та підтвердили FDA-схваленими методами, що вони є негативними на ВІЛ-1/2, HBsAg та ВГС. Проте, всі реагенти треба вважати потенційно інфекційними під час використання та утилізації.
- Перед початком аналізу повністю та уважно прочитати інструкцію. Використовувати дійсну версію інструкції. Впевніться, що все зрозуміло.
- Мікропланшет складається з відривних смужок. Невикористані лунки зберігати при 2-8 °C запакованими, та використовувати рамку, яка постачається.
- Піпетування взірців та реагентів проводити якомога швидше та з однаковими інтервалами для кожного кроку.
- Використовувати пробірки тільки для одного реагенту. Це особливо відноситься до пробірок з субстратами. Використання резервуару для дозування розчину субстрату, який раніше був використаний для розчину кон'югату, може призвести до забарвлення розчину. Не виливайте реагенти назад у флакон, оскільки може відбутися забруднення.
- Змішуйте вміст лунок мікропланшетів повністю, щоб забезпечити хороші результати тесту. Не використовуйте повторно лунки.

Перекладач Романюк Н. П.

- Не дозволяйте лункам висихати під час аналізу; додавати реагенти негайно після закінчення полоскання.
- Дозволити реагентам досягти кімнатної температури (21-26 °C) до початку тесту. Температура може вплинути на значення оптичної щільності. Проте, це не вплине на значення зразків пацієнтів.
- Не піпетуйте реагенти ротом і уникайте контакту реагентів і зразків з шкірою і слизовими.
- Не їжте, не пийте і не курить в приміщеннях, де використовуєте зразки чи реагенти.
- Одягайте рукавички при роботі із зразками і реагентами. Мікробіологічне забруднення реагентів чи зразків може дати помилкові результати.
- Використання набору повинно проводитись згідно з вимогами по техніці безпеки.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
- Необхідно дотримуватись об'ємів, вказаних в інструкції. Оптимальні результати будуть отримані при використанні каліброваних піпеток та мікротитрових планшетних зчитувачів.
- Не змішуйте реагенти різних серій і різних наборів, оскільки ці набори могли транспортуватись чи зберігатись при різних умовах.
- Уникайте контакту зі *Стоп-розчином*, що містить 0,5 М Н₂SO₄. Це може викликати подразнення шкіри і опіки.
- Деякі реагенти містять Proclin 300, BND і/або MIT в якості консервантів. При попаданні в очі або на шкіру, негайно промийте водою.
- ТМБ субстрат викликає подразнення шкіри та слизової. У випадку можливого контакту, промити очі великою кількістю води, а шкіру – водою з милом. Помити забруднені об'єкти перед повторним використанням. При вдиханні, вивести потерпілого на свіже повітря.
- Хімічні речовини і приготовлені чи використані реагенти повинні бути оброблені відповідно до вимог по техніці безпеки.
- Інформацію про небезпечні речовини, що входять до набору, див. у Паспорті Безпеки. Паспорти безпеки для цього продукту можна отримати за запитом безпосередньо від DRG.

4. РЕАГЕНТИ

4.1 Реагенти, які постачаються

- Мікротитрові лунки:** 12 x 8 смужок, 96 лунок, покритих анти-Естріол антитілами (поліклональними).
- Стандарт (Стандарти 0-5):** 6 флаконів, 1 мл, готові до використання; Концентрації: 0-0,3-1,2-4,0-15-40 нг/мл.
- Контроль Низький та Високий:** 2 флакони, 1 мл кожен, готові до використання; Значення і діапазони дивіться на етикетці флакону або паспорті якості. Містить нертуний консервант.
- Ферментний кон'югат,** 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, Естріол, кон'югований з пероксидазою хрому. Містить нертуний консервант.
- Розчин субстрату,** 1 флакон, 14 мл, готовий до використання. Тетраметилбензидин (ТМБ)
- Стоп-розчин,** 1 флакон, 14 мл, готовий до використання, Містить 0.5 М Н₂SO₄, Уникайте контакту зі стоп-розчином. Це може привести до пошкодження шкіри та опіків.
- Противний Розчин,** 1 флакон, 30 мл (40X). Див. «Приготування реагентів»

Примітка: Додатково *Нульовий Стандарт* для розведення зразків наявний за запитом.

4.2 Необхідні матеріали, що не постачаються

- Мікротитровий відкалібрований зчитувач для планшетів (450 нм, з референсною довжиною при 620 нм – 630 нм)
- Відкалібровані регульовані точні мікропіпетки
- Абсорбуючий папір
- Дистильована вода
- Таймер
- Напівлогарифмічний графічний папір або ПЗ для обробки даних

4.3 Умови зберігання

За умови зберігання при температурі 2-8 °C закриті реагенти зберігають реактивність до дати закінчення терміну придатності. Відкриті реагенти слід зберігати при 2-8 °C. Мікротитрові лунки слід зберігати при температурі 2 - 8°C. Після відкриття мішечка із фольги треба знову його герметично закрити. Відкритий набір зберігає активність 8 тижнів при зберіганні, як вказано вище.

4.4 Підготовка реагентів

Перед використанням доведіть всі реагенти та потрібну кількість смужок до кімнатної температури.

Промивний розчин

Додайте деіонізовану воду до 40х концентрованого Промивного Розчину. Розведіть 30 мл концентрованого Промивного Розчину з 1170 мл деіонізованої води до об'єму 1200 мл.
Розведений Промивний Розчин стабільний впродовж 2 тижнів при кімнатній температурі.

4.5 Утилізація набору

Утилізацію набору слід проводити відповідно до вимог місцевого регулювання. Спеціальна інформація для цих продуктів вказана в Паспорті Безпеки.

4.6 Пошкоджені набори

При пошкодженні набору чи його компонентів необхідно повідомити в письмовій формі виробника впродовж одного тижня після отримання виробу. Сильно пошкоджені компоненти не слід використовувати. Їх потрібно зберігати до вирішення проблеми. Після цього вони повинні бути утилізовані відповідно до офіційних вимог.

5. ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Сироватку потрібно використовувати в аналізі.

Примітка: зразки, які містять азид натрію, не повинні використовуватись в аналізі.

Не використовувати гемолітичні, іктеричні чи ліпемічні зразки. Додаткову інформацію дивитися у розділі «Інтерферуючі речовини».

5.1 Забір зразків

Сироватка:

Проведіть забір крові венепункцією (напр. Sarstedt Monovette для сироватки); дозвольте крові згорнутись і відділіть сироватку, центрифугуючи при кімнатній температурі. Не центрифугуйте до повного згортання крові. Пацієнтам, які проходять терапію антикоагулянтами, може знадобитися більше часу для згортання крові.

5.2 Підготовка та зберігання зразків

Зразки повинні бути закриті і в такому вигляді можуть зберігатись при 2-8 °C до 7 днів перед дослідженням.
Для довшого зберігання (до 19 місяців) зразки слід заморозити до -20 °C перед використанням. Після розмороження зразки необхідно кілька разів перевернути перед дослідженням.

5.3 Розведення зразків

Якщо при початковому аналізі зразок сироватки показує значення вище за найвищий стандарт, зразки можуть бути розведені 0 Стандартом і проаналізовані повторно, як описано у Процедурі Аналізу.

Для обчислення концентрації необхідно врахувати коефіцієнт розведення.

Приклад:

Розведення 1:10: 10 мкл сироватки + 90 мкл 0 Стандарту (ретельно змішайте)

Розведення 1:100: 10 мкл розведення а) 1:10 + 90 мкл 0 Стандарту (ретельно змішайте).

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

6.1 Загальні зауваження

- Доведіть всі реагенти до кімнатної температури перед початком дослідження. Всі реагенти змішуйте без піноутворення.
- Після початку дослідження всі кроки повинні виконуватись без переривання.
- Використовуйте нові насадки для піпеток перед кожним використанням, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Оптична щільність залежить від температури і часу інкубації. Тому, перед початком дослідження необхідно прослідкувати, щоб все було готово: ковпачки зняті, реагенти приготовлені, лунки закріплені у тримачі і т. д. Це дозволить проводити всі етапи за однакових інтервалів часу та без затримок.
- За загальним правилом ферментативна реакція лінійно пропорційна часу і температурі.

6.2 Процедура аналізу

Кожна процедура повинна включати калібрувальну криву.

1. Закріпіть необхідну кількість мікротитрових лунок у штативі.

Перекладач Романюк Н. П.

2. Додайте по **10 мкл** кожного **Стандарту, Контролю та зразків** у відповідні лунки **кожен раз з новою насадкою**.
3. Додайте по **100 мкл Ферментного Кон'югату** в кожну лунку. Ретельно перемішуйте впродовж 10 сек. На цьому етапі важливо провести повне змішування.
4. Інкубуйте **60 хвилин** при кімнатній температурі.
5. Вилийте різко вміст лунок. Промийте лунки **4 рази** розведеним Промивним Розчином **400 мкл** на лунку, якщо використовується вошер – або – промийте лунки **4 рази з 300 мкл Промивним Розчином** на лунку для ручного промивання. Переверніть лунки на абсорбуючий папір для видалення залишків.
Важливе зауваження:
Чутливість і точність цього аналізу залежить від правильності проведення процедури промивання!
6. Додайте **100 мкл Розчину Субстрату** в кожну лунку.
7. Інкубуйте **30 хвилин** при кімнатній температурі.
8. Зупиніть ферментативну реакцію, додавши **100 мкл Стоп-Розчину** в кожну лунку.
9. Визначте оптичну щільність (ОЩ) розчину у кожній лунці при **450 нм (зчитування) та при 620 – 630 нм, рекомендуються віднімання фону)** за допомогою мікротитрового планшет-зчитувача. Рекомендується, проводити зчитування лунок **впродовж 10 хвилин** після додавання **Стоп-Розчину**.

6.3 Обчислення результатів

1. Визначте значення середньої оптичної щільності для кожного набору стандартів, контролів і зразків пацієнтів.
2. За допомогою напівлогарифмічного міліметрового паперу побудуйте стандартну криву, позначаючи середнє значення OD, отриманого від кожного стандарту, проти його концентрації зі значенням OD на вертикальній осі (Y) і концентрацією на горизонтальній (X) осі.
3. Використовуючи середнє значення OD для кожного зразка, визначте відповідну концентрацію зі стандартної кривої.
4. Автоматичний метод: результати в Інструкції з використання були розраховані автоматично з використанням кривої 4 параметрів. (4 параметри Rodbard або 4 параметра Marquardt є найкращими методами.) Інші функції зменшення даних можуть дати дещо інші результати.
5. Концентрація зразків може зчитуватись з стандартної кривої. Зразки з концентрацією вище, чим концентрація найвищого стандарту необхідно розбавити або позначати як > 40 нг/мл. При вирахованні концентрації цей фактор розведення необхідно враховувати.

6.3.1 Приклад типової стандартної кривої

Наступні дані наведені тільки для демонстрації і **не можуть** використовуватись для отримання результатів під час аналізу.

Стандарти	Оптична щільність (450 нм)
Стандарт 0 (0,0 нг/мл)	1.79
Стандарт 1 (0,3 нг/мл)	1.48
Стандарт 2 (1,2 нг/мл)	1.18
Стандарт 3 (4,0 нг/мл)	0.81
Стандарт 4 (15,0 нг/мл)	0.52
Стандарт 5 (40,0 нг/мл)	0.38

7 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ НОРМИ

Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала власні нормальні і патологічні значення.

7.1 Здорові дорослі люди

У дослідженні, проведеному на здорових дорослих пацієнтах, з використанням набору DRG Естріол вільний ІФА, були отримані наступні дані:

Населення	К-сть	Середнє (нг/мл)	Медіана (нг/мл)	5% - 95% процентиль (нг/мл)	2,5 - 97,5% процентиль (нг/мл)	Діапазон (мін. - макс.) (нг/мл)
Чоловіки	42	0.359	0.367	0.146 – 0.573	0.077 – 0.878	0.075 – 0.987
Жінки (не вагітні)	43	0.348	0.286	0.057 – 0.822	0.038 – 1.027	0.009 – 1.307

Результати аналізу не можуть бути єдиною причиною для терапевтичного висновку. Результат повинен корелювати з іншими клінічними дослідженнями і діагностичними тестами.

7.2 Значення під час вагітності

(p.m.=post menstruationem)

Тиждень гестації p.m.	Очікуваний діапазон нг/мл	Тиждень гестації p.m.	Очікуваний діапазон нг/мл	Двійнята нг/мл
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	---

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Вимірювання вільного Естріолу в біологічних рідинах людини використовується для моніторингу і контролю над станом плоду, особливо у жінок, що входять до групи ризику. Концентрація вільного Естріолу в плазмі поступово підвищується до 20 тижня і швидше на третьому триместрі. Так як діапазон нормального і патологічного рівня вмісту Естріолу широкий, одноразове визначення буде мало корисним. Пацієнт повинен спостерігатися часто для визначення індивідуальної схильності.

Постійний низький вміст або різке падіння рівня вільного Естріолу на третьому триместрі показує патологічний стан плода або можливу смерть. При отриманні таких результатів необхідно використання альтернативних методів оцінки стану плода.

Інтерпретація результатів повинна проводитися в поєднанні з іншими клінічними тестами і діагностичними процедурами, такими як амніоцентез і ультразвук. Рівні вмісту Е3, що відхиляються від норми, можуть зустрічатися у пацієнтів, які приймають деякі антибіотики або кортикостероїди або у пацієнтів з ослабленою функцією печінки.

8. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Рекомендується використовувати контролю відповідно до державних і місцевих правил. Використання контролю дає можливість щоденної оцінки достовірності результатів. Використовуйте контролю як нормального рівня так і патологічного.

Контролі і відповідні результати QC лабораторії вказані в QC сертифікаті, що постачається з набором. Величини, вказані в даному сертифікаті, відповідають лоту набору і повинні використовуватись для порівняння результатів.

Також, рекомендується використовувати національні і міжнародні програми оцінки якості для підтвердження достовірності результатів.

Використовуйте відповідний статистичний метод для аналізу значень контролю. Якщо результати аналізу не попадають у встановлені межі матеріалів контролю, результати є не достовірними.

В такому випадку, перевірте наступні дані: пристрої піпетування і вимірювання часу; фотометр; дати придатності реагентів, умови зберігання і інкубації, методи аспірації і промивання.

Якщо не знайдено помилки, зверніться до Вашого постачальника або безпосередньо до DRG.

9 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 Динамічний діапазон аналізу

Діапазон аналізу знаходиться між 0.021 - 40 нг/мл.

9.2 Специфічність антитіл (перехресна реактивність)

Наступні речовини були протестовані для виявлення перехресної-реакції:

Стероїд	Концентрація стероїду	ОГ 450	Отримана концентрація
Естріол (Е3)	40 нг/мл	0.39	39.67 нг/мл
Тестостерон	16 нг/мл	1.758	Не визначається
Естрадіол (Е2)	2 нг/мл	1.579	Не визначається
Естрон (Е1)	2 нг/мл	1.712	Не визначається
Кортизол	800 нг/мл	1.775	Не визначається

9.3 Чутливість

Аналітична чутливість DRG ІФА визначена шляхом віднімання 2 стандартних відхилень від середнього значення 20 повторних аналізів стандарту 0 і було встановлено, що вона становить 0.021 нг / мл.

9.4 Відтворюваність

9.4.1 Варіативність в аналізі

Зразок	К-сть	Середнє, нг/мл	КВ, %
1	20	2.1	4.7
2	20	6.2	3.2
3	20	14.6	3.0

9.4.2 Варіативність між аналізами

Зразок	К-сть	Середнє, нг/мл	КВ, %
1	12	2.1	4.6
2	12	5.7	8.5
3	12	13.3	9.5

9.5 Відновлення

Відновлення ІФА DRG було визначено додаванням зростаючих кількостей аналіту до трьох різних сироваток, що містять різну кількість ендogenous аналіту. Кожен зразок (насичений і ненасичений) був проаналізований і концентрації аналіту зразків були визначені за стандартною кривою. Відсоток відновлення було визначено шляхом порівняння очікуваних і вимірених значень зразків.

	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3
Концентрація (нг/мл)	1.3	3.6	7.8
Середнє відновлення	100.8	101.8	106.9
Діапазон від	89.0	92.3	98.5
Відновлення (%) до	103.8	109.8	112.3

9.6 Лінійність

	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3
Концентрація (нг/мл)	2.6	7.2	15.6
Середнє відновлення	98.2	99.7	100.2
Діапазон від	86.3	90.4	96.4
Відновлення (%) до	107.9	106.8	103.7

10. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Надійні та відтворювані результати будуть отримані коли процедура дослідження проводиться з повним розумінням цієї інструкції, з дотриманням вимог професійної лабораторної практики.

Будь-яке неправильне поводження зі зразками або зміна цього дослідження може вплинути на результати.

10.1 Інтерферуючі речовини

Не впливають на результати аналізу гемоглобін (до 4 мг/мл), білірубін (до 0.125 мг/мл) і тригліцериди (до 30 мг/мл).

10.2 Вплив лікарських засобів

На сьогодні не відомо жодних речовин (лікарських засобів), що впливають на вимірювання Естріолу в зразку.

10.3 «Хук-ефект» високої дози

Не спостерігалось хук-ефекту в цьому дослідженні.

11. ПРАВОВІ АСПЕКТИ

11.1 Достовірність результатів

Тестування слід проводити точно відповідно до інструкцій виробника щодо використання. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватися правил GLP (належної лабораторної практики) або інших встановлених національних стандартів та/або законів. Це особливо актуально для використання контрольних реагентів. Важливо завжди включати в процедуру тестування достатню кількість контролів для перевірки достовірності та точності тесту.

Результати випробувань є дійсними лише у тому випадку, якщо всі контролю знаходяться в межах зазначених діапазонів і якщо всі інші параметри випробувань також знаходяться в межах заданих специфікацій аналізу. У разі будь-яких сумнівів або занепокоєння, будь ласка, зв'яжіться з DRG.

11.2 Терапевтичні висновки

Терапевтичні наслідки ніколи не повинні базуватися лише на лабораторних результатах, навіть якщо всі результати тестів узгоджуються з предметами, як зазначено в пункті 11.1. Будь-який лабораторний результат - це лише

частина загальної клінічної картини пацієнта. Лише у випадках, коли лабораторні результати узгоджуються із загальною клінічною картиною пацієнта, слід робити терапевтичні висновки. Сам результат тесту ніколи не повинен бути єдиним фактором, що визначає будь-які терапевтичні висновки.

11.3 Відповідальність

Будь-яка модифікація тестового набору та/або заміна або змішування будь-яких компонентів різних партій від одного тестового набору до іншого може негативно вплинути на заплановані результати та валідність загального тесту. Така модифікація та /або заміна втрачають силу будь-яких претензій щодо заміни.

Претензії, подані через неправильне тлумачення замовником лабораторних результатів відповідно до пункту 11.2, також є недійсними. Незалежно від того, у випадку будь-якої претензії, відповідальність виробника не повинна перевищувати вартість тестового набору. Виробник не несе відповідальності за пошкодження тестового набору під час транспортування.



ВИРОБНИК

ДРГ Інструментс ГмбХ
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
e-mail: 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
www.diameb.ua

