



Instruction for use



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
НАБОРА РЕАГЕНТОВ  
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
ЭСТРАДИОЛА В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ

## «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY  
FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF ESTRADIOL IN HUMAN SERUM OR PLASMA

## ESTRADIOL EIA

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ REF **K208**

ТУ № 9398-032-18619450-2007

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ  
№ ФСР 2007/00736 от 04 сентября 2013 года



For 96 determinations/На 96 определений

Для *in vitro* диагностики



XEMA Co., Ltd.  
The 9th Parkovaya str., 48  
105264 Moscow, Russia  
Tel./fax: +7(495) 510-57-07  
e-mail: [redkin@xema-medica.com](mailto:redkin@xema-medica.com)  
internet: [www.xema-medica.com](http://www.xema-medica.com)



Authorized Representative in EU:  
Polmed.de  
Steinacker 20, D-73773  
Aichwald, Germany  
e-mail: [info@polmed.de](mailto:info@polmed.de)

«УТВЕРЖДЕНА»  
Приказ Росздравнадзора № 4612-Пр/13 от 04 сентября 2013 г.  
№ РД-1458/22235 от 23.08.2013

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭСТРАДИОЛА В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

**1.1.** Набор реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации эстрадиола в сыворотке и плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Эстрадиол (E2) – стероидный гормон с молекулярным весом 272.4 Да. Это наиболее активный из эстрогенов в организме человека. Считается, что у мужчин незначительное количество эстрадиола вырабатывается в коре надпочечников и в яичках. В женском организме он образуется в яичниках, оболочке и гранулезных клетках фолликулов. Физиологическая роль E2 заключается в формировании специфических функций женского организма. Секреция E2 регулируется взаимодействием гормонов гипоталамуса, гипофиза и яичников при участии либеринов, гонадотропинов, пролактина и половых стероидов. Уровень эстрадиола остается низким в начале и середине фолликулярной фазы нормального менструального цикла. За 3–5 дней до пика ЛГ уровень E2 начинает расти и достигает максимального значения примерно за 12 часов до пика ЛГ. После резкого падения до минимальных значений (спустя 48 часов после пика ЛГ), уровень E2 начинает снова расти. Максимальная концентрация гормона в лютеиновой фазе наблюдается на 9-й день после овуляции, а к концу цикла вновь падает по мере атрезии желтого тела. Во время беременности определение уровня эстрадиола в крови позволяет контролировать состояние фетоплацентарной системы. Содержание E2 в крови матери в начале беременности соответствует его содержанию у небеременных женщин во время овуляции. Резкий подъем его уровня наблюдается к 9-й – 10-й неделе (в 12 раз), затем постепенно увеличивается до конца беременности. Снижение концентрации эстрадиола при динамическом исследовании является показателем нарушения развития плода. Повышенные уровни эстрадиола в сыворотке крови наблюдаются при маточных кровотечениях в период менопаузы; гиперплазии надпочечников; эстрогенпродуцирующих опухолях; циррозе печени; феминизации у детей; приеме гонадотропинов, кломифена, эстрогенов. Снижение уровня эстрадиола наблюдается при синдроме Тернера, первичном и вторичном гипогонадизме, гермафродитизме, климактерическом и постклимактерическом синдромах, нарушении состояния плода во время беременности, приеме оральных контрацептивов.

## 2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение эстрадиола основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунки планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к эстрадиолу. Эстрадиол из образца конкурирует с конъюгированным эстрадиолом за связывание с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание концентратов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации эстрадиола в исследуемом образце. Концентрацию эстрадиола в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания эстрадиола в калибровочных пробах.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1. Специфичность.** Перекрестная реакция кроличьих поликлональных антител к эстрадиолу с другими антителами приведена в таблице:

| Аналит            | Перекрестная реакция, % |
|-------------------|-------------------------|
| Эстрадиол         | 100                     |
| Эстрон            | 0.2                     |
| Эстриол           | 0.6                     |
| Кортизол          | 0.06                    |
| Преднизолон       | 0.09                    |
| Кортикостерон     | <0.01                   |
| Прогестерон       | <0.01                   |
| 17-ОН Прогестерон | <0.05                   |
| Прегненолон       | <0.05                   |
| Тестостерон       | <0.01                   |

## 3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания эстрадиола в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» не превышает 8.0%.

## 3.3. Линейность.

Зависимость концентрации эстрадиола в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей эстрадиол, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,1–20 нмоль/л и составляет  $\pm 10.0\%$ .

## 3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации эстрадиола предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы 0.3 нмоль/л. Процент «открытия» составляет 90–110%.

## 3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» концентрация эстрадиола в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.025 нмоль/л.

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

**5.2.** Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5,0% раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

**5.3.** При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемиологического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

**5.4.** При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

## 6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$  (или термостатируемый шейкер);
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

## 7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

**7.1.** Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре ( $+18...+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) не менее 30 мин.

### 7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре  $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности Набора.

### 7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

## 4. СОСТАВ НАБОРА

| Код компонента | Символ | Наименование                                                                                                                                                                        | Кол-во Ед. | Ед. | Описание                                                                                         |
|----------------|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1              | P208Z  | Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию                                                                                                           | 1          | шт. | -                                                                                                |
| 2              | C208Z  | Калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества эстрадиола – $0.1; 0.3; 1; 3; 20\text{ нмоль/л}$ (готовы к использованию (по 0.8 мл каждая) | 6          | шт. | прозрачные жидкости ярко-красного цвета (калибровочная проба 0 – прозрачная бесцветная жидкость) |
| 3              | Q208Z  | Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием эстрадиола (0.8 мл) (готова к использованию)                                                       | 1          | шт. | прозрачная бесцветная жидкость                                                                   |
| 4              | T208Z  | Конъюгат, готов к использованию (14 мл)                                                                                                                                             | 1          | шт. | прозрачная жидкость красного цвета                                                               |
| 5              | R055Z  | Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ), готов к использованию (14 мл)                                                                                                          | 1          | шт. | прозрачная бесцветная жидкость                                                                   |
| 6              | S008Z  | Концентрат отмывочного раствора (солевой раствор с Tween-20 и бензиновой кислотой), 26х-кратный (22 мл)                                                                             | 1          | шт. | прозрачная бесцветная жидкость                                                                   |
| 7              | R050Z  | STOP-реагент, готов к использованию (14 мл)                                                                                                                                         | 1          | шт. | прозрачная бесцветная жидкость                                                                   |
| 8              | N003   | Бумага для заклеивания планшета                                                                                                                                                     | 2          | шт. | -                                                                                                |
| 9              | K2081  | Инструкция по применению Набора реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»                                                                                                                           | 1          | шт. | -                                                                                                |
| 10             | K208Q  | Паспорт контроля качества Набора реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА»                                                                                                                          | 1          | шт. | -                                                                                                |

K2081

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**8.1.** Набор реагентов «ЭСТРАДИОЛ-Ифа» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °C в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °C не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

**Допускается однократное замораживание (-20 °C) калибровочных проб и контрольной сыворотки в аликвотах.**

**8.2.** Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 исследуемых образцов, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

**8.3.** В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °C в течение всего срока годности Набора;
  - конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °C в течение всего срока годности Набора;
  - калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °C не более 2 месяцев;
  - оставшийся неиспользованным концентрат отмычного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °C в течение всего срока годности Набора.
- Приготовленный отмычный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °C) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °C не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

**8.4.** Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °C. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

**8.5.** Исключается использование для анализа образцов сыворотки (плазмы) крови людей, получивших в целях диагностики или терапии препараты, в состав которых входят мышинные антитела.

**8.6.** При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации эстрадиола в контрольной сыворотке.

**8.7.** Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдение Инструкции по применению Набора.

**8.8.** Не используйте компоненты из других наборов или из аналогичных наборов других серий.

**8.9.** Срок годности Набора 18 месяцев.

## 9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 2  | <b>Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки.</b> В остальные лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки и исследуемых образцов (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут.                                                                                                                                        |
| 3  | <b>Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 4  | Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 120 минут при температуре +37 °C. Допускается инкубация в течение 60 минут при +37 °C и постоянном встряхивании (600 об/мин)                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 5  | По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз. При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмычного раствора (см. п. 7.3), встряхните планшет для деактивирования. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом деактивировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.                                                                     |
| 6  | <b>Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина.</b> Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25 °C) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.                                                                                                                                                           |
| 7  | <b>Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента,</b> при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 8  | <b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре</b> вертикального сканирования <b>при длине волны 450 нм.</b> Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по воздуху.                                                                                                                                                                                    |
| 9  | Посмотрите в полугоризонтальных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – десятичный логарифм концентрации эстрадиола в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма подсчета (аппроксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод. Приведяйте концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0,001 нмоль/л. |
| 10 | Определите по калибровочному графику содержание эстрадиола в исследуемых образцах.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

XEMA

## 10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

**10.1.** Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами GLP (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

**Примечание.** Значения концентраций эстрадиола в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.025 нмоль/л), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (20 нмоль/л) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация эстрадиола ниже 0.025 нмоль/л или выше 20 нмоль/л.

**10.2.** В Наборе «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нмоль/л. Для пересчета концентраций в пг/мл, полученное значение концентрации в нмоль/л следует умножить на 272.

1 нмоль/л = 272 пг/мл

| Исследуемая группа | Единицы, нмоль/л |                | Единицы доп., пг/мл |                |
|--------------------|------------------|----------------|---------------------|----------------|
|                    | Нижний предел    | Верхний предел | Нижний предел       | Верхний предел |
| дети до 11 лет     | -                | 0.2            | -                   | 54.4           |
| Мужчины            | 0.029            | 0.3            | 7.9                 | 81.6           |
| Женщины            |                  |                |                     |                |
| Беременные:        |                  |                |                     |                |
| 1-й триместр       | 0.1              | 10.5           | 27                  | 2856           |
| 2-й триместр       | 3.0              | 21             | 816                 | 5712           |
| 3-й триместр       | 6.0              | 80             | 1632                | 21760          |
| Фазы цикла:        |                  |                |                     |                |
| фолликулярная      | 0.05             | 0.7            | 13.6                | 190.4          |
| лютеиновая         | 0.1              | 1.1            | 27.2                | 299.2          |
| овуляция           | 0.34             | 1.8            | 92.5                | 489.6          |
| менопауза          | -                | 0.23           | -                   | 62.6           |

## 11. ЛИТЕРАТУРА

- Hall, P. F., Testicular Steroid Synthesis: Organization and Regulation. In: The Physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp 975-98. Raven Press, New York (1988).
- Tsang, B. K., Armstrong, D. T. and Whitfield, J. F., Steroid biosyntheses by isolated human ovarian follicular cells in vitro, J. Clin. Endocrinol. Metab. 51:1407-11 (1980).
- Gore-Langton, R. E. and Armstrong, D. T., Follicular steroidogenesis and its control. In: The Physiology of Reproduction, Ed.: Knobil, E., and Neill, J. et al., pp. 331-85. Raven Press, New York (1988).
- Siiteri, P. K. Murai, J. T., Hammond, G. L., Niskier, J. A., Raymoure, W. J. and Kuhn, R. W., The serum transport of steroid hormones, Rec. Prog. Horm. Res. 38:457-510 (1982).
- Martin, B., Rotten, D., Jolivet, A. and Gautray, J-P., Binding of steroids by proteins in follicular fluid of the human ovary, J.Clin. Endocrinol. Metab. 35: 443-47 (1981).
- Baird, D. T., Ovarian steroid secretion and metabolism in women. In: The Endocrine Function of the Human Ovary, Eds.: James, V.H.T., Serio, M. and Giusti, G. pp. 125-33, Academic Press, New York (1976).
- McNastty, K. P., Baird, D. T., Bolton, a., Chambers, P., Corker, C.S. and McLean, H., concentration of oestrogens and androgens in human ovarian venous plasma and follicular fluid throughout the menstrual cycle, J. Endocrinol. 71:77-85 (1976).

По вопросам, касающимся качества Набора «ЭСТРАДИОЛ-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:

105043, г. Москва, а/я 58  
105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,  
тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; gqc@xema.ru  
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,  
к. б. н. Д. С. Кострикин