



DCM019-8
Ed. 03/2017

TOTAL ESTRIOL ELISA

per analisi di routine

Determinazione immunoenzimatica dell'Estriolo Totale nel siero o plasma umano

IVD



LOT

vedere etichetta esterna



$\Sigma = 96$ test

REF DKO019

DESTINAZIONE D'USO

Metodo competitivo immunoenzimatico colorimetrico per la determinazione quantitativa della concentrazione dell'Estriolo Totale nel siero o plasma umano.

Il kit Total Estriol ELISA è destinato al solo uso di laboratorio.

1. SIGNIFICATO CLINICO

L'estriolo è uno dei tre estrogeni principali prodotti dal corpo umano. È prodotto soltanto durante la gravidanza dal feto.

Durante la gravidanza la produzione di estriolo dipende da un'unità materno-placentare-fetale intatta. La produzione Fetale-placentare di estriolo conduce ad un aumento progressivo nei livelli circolanti materni che raggiungono un picco al termine della gestazione, notevolmente superiore rispetto ai livelli delle non gravide. Nella circolazione materna, l'estriolo viene velocemente coniugato nel fegato ed escreto per via urinaria con un'emivita di ~20 minuti. Poiché la produzione normale dell'estriolo dipende da una circolazione matern o-placentare-fetale intatta e da un metabolismo fetale funzionale, i livelli materni dell'estriolo sono usati per controllare la condizione fetale durante la gravidanza, specialmente durante il terzo trimestre.

Il DHEA prodotto dalla corteccia surrenale del feto, è convertito in estriolo dalla placentata.

Livelli anormalmente bassi in una donna incinta, possono indicare un problema nello sviluppo del bambino.

I livelli di estriolo in donne non gravide, in menopausa e negli uomini sono simili

2. PRINCIPIO DEL METODO

L'Estriolo Totale (antigene) presente nel campione, compete con l'estriolo antigenico marcato con perossidasi di rafano (HRP) nei confronti dell'anticorpo anti-estriolo adsorbito su micropiastra (fase solida).

Dopo l'incubazione, la separazione libero-legato si ottiene mediante semplice lavaggio della fase solida.

L'enzima HRP presente nella frazione legata, catalizza la reazione tra il Substrato (H_2O_2) ed il TMB Substrate, sviluppando una colorazione blu che vira al giallo dopo aggiunta dello Stop solution (H_2SO_4).

L'intensità del colore sviluppato è inversamente proporzionale alla concentrazione dell'estriolo totale presente nel campione.

La concentrazione di estriolo totale nel campione è calcolata sulla base di una curva di calibrazione.

3. REATTIVI, MATERIALI E STRUMENTAZIONE

3.1. Reattivi e materiali forniti nel kit

1. Calibrators (5 flaconi, 1 mL ciascuno)

CAL0	REF DCE002/1906-0
CAL1	REF DCE002/1907-0
CAL2	REF DCE002/1908-0
CAL3	REF DCE002/1909-0
CAL4	REF DCE002/1910-0

2. Controls (2 flaconi, 1 mL ciascuno)

Control A	REF DCE045/1903A-0
Control B	REF DCE045/1903B-0

La concentrazione dei Controlli è indicata sul Certificato di Analisi

3. Conjugate (1 flacone, 22 mL)

Estriolo coniugato con perossidasi di rafano (HRP)
REF DCE002/1902-0

4. Coated Microplate (1 micropiastra breakable)

Anticorpo anti estriolo adsorbito su micropiastra
REF DCE002/1903-0

5. TMB Substrate (1 flacone, 15 mL)

H_2O_2 -TMB (0,26 g/L) (evitare il contatto con la pelle)
REF DCE004-0

6. Stop Solution (1 flacone, 15 mL)

Acido Solforico 0,15 mol/L (evitare il contatto con la pelle)
REF DCE005-0

7. 10X Conc. Wash Solution (1 flacone, 50 mL)

Tampone fosfato 0,2M pH 7.4 REF DCE054-0

3.2. Reattivi necessari non forniti nel kit

Acqua distillata.

3.3. Materiale e strumentazione ausiliare

Dispensatori automatici.

Lettore per micropiastre (450 nm, 620-630 nm).

Note

Conservare tutti i reattivi a 2-8°C, al riparo dalla luce.

Aprire la busta del reattivo 4 (Coated Microplate) solo dopo averla riportata a temperatura ambiente e chiuderla subito dopo il prelievo delle strip da utilizzare; una volta aperta è stabile fino alla data di scadenza del kit.

Evitare di staccare la sheet adesiva dalle strip che non vengono utilizzate nella seduta analitica.

4. AVVERTENZE

- Questo test kit è per uso in vitro, da eseguire da parte di personale esperto. Non per uso interno o esterno su esseri Umani o Animali.
- Usare i previsti dispositivi di protezione individuale mentre si lavora con i reagenti forniti.
- Seguire le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP) per la manipolazione di prodotti derivati da sangue.
- Materiali di origine animale usati per la preparazione di questo kit sono stati ottenuti da animali sani e le proteine bovine sono state ottenute da paesi non affetti da BSE, ma comunque questi materiali dovrebbero essere usati come potenzialmente contagiosi.
- Alcuni reagenti contengono piccole quantità di Proclin 300^R come conservante. Evitare il contatto con la pelle e le mucose.
- Il TMB Substrato contiene un irritante, che può essere dannoso se inalato, ingerito o assorbito attraverso la cute. Per prevenire lesioni, evitare l'inalazione, l'ingestione o il contatto con la cute e con gli occhi.
- La Stop Solution è costituita da una soluzione di acido solforico diluito. L'acido solforico è velenoso e corrosivo e può essere tossico se ingerito. Per prevenire possibili ustioni chimiche, evitare il contatto con la cute e con gli occhi.
- Evitare l'esposizione del reagente TMB/H₂O₂ a luce solare diretta, metalli o ossidanti. Non congelare la soluzione.
- Questo metodo consente di determinare concentrazioni dell'Estriolo Totale da 2 ng/mL a 200 ng/mL.
- La somministrazione di steroidi naturali o sintetici può alterare i livelli ematici di Estriolo.

5. PRECAUZIONI

- Si prega di attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi indicata in questo protocollo. I risultati presentati qui sono stati ottenuti usando specifici reagenti elencati in queste Istruzioni per l'Uso.
- Tutti i reattivi devono essere conservati a temperatura controllata di 2-8°C nei loro contenitori originali. Eventuali eccezioni sono chiaramente indicate. I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza se conservati e trattati seguendo le istruzioni fornite.
- Prima dell'uso lasciare tutti i componenti dei kit e i campioni a temperatura ambiente (22-28°C) e mescolare accuratamente.

- Non scambiare componenti dei kit di lotti diversi. Devono essere osservate le date di scadenza riportate sulle etichette della scatola e di tutte le fiale. Non utilizzare componenti oltre la data di scadenza.
- Qualora si utilizzi strumentazione automatica, è responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il kit sia stato opportunamente validato.
- Un lavaggio incompleto o non accurato dei pozzetti può causare una scarsa precisione e/o un'elevato background. Per migliorare le prestazioni del kit su strumentazione automatica, si consiglia di aumentare il numero di lavaggi.
- Per la riproducibilità dei risultati, è importante che il tempo di reazione di ogni pozzetto sia lo stesso. Per evitare il time shifting durante la dispensazione degli reagenti, il tempo di dispensazione dei pozzetti non dovrebbe estendersi oltre i 10 minuti. Se si protrae oltre, si raccomanda di seguire lo stesso ordine di dispensazione. Se si utilizza più di una piastra, si raccomanda di ripetere la curva di calibrazione in ogni piastra.
- L'aggiunta del TMB Substrato dà inizio ad una reazione cinetica, la quale termina con l'aggiunta della Stop Solution. L'aggiunta del TMB Substrato e della Stop Solution deve avvenire nella stessa sequenza per evitare tempi di reazione differenti.
- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori clinici testando controlli e/o pool di sieri.
- Osservare la massima precisione nella ricostituzione e dispensazione dei reagenti.
- Non usare campioni microbiologicamente contaminati, altamente lipemici o emolizzati.
- I lettori di micropiastre leggono l'assorbanza verticalmente. Non toccare il fondo dei pozzetti.

6. PROCEDIMENTO

6.1. Preparazione di Calibratori e Controlli

I Calibratori sono pronti all'uso ed hanno le seguenti concentrazioni di Estriolo:

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
ng/mL	0	2	20	80	200

I Controlli sono pronti all'uso.

Una volta aperti, Calibratori e Controlli sono stabili per 6 mesi a 2÷8°C.

6.2. Preparazione della Wash Solution

Prima dell'uso, diluire il contenuto di ogni fiala di "10X Conc. Wash Solution" con acqua distillata fino al volume di 500 mL. Per preparare volumi minori rispettare il rapporto di diluizione di 1:10. La soluzione di lavaggio diluita è stabile a 2-8°C per almeno 30 giorni.

Nella wash solution concentrata è possibile osservare la presenza di cristalli; in tal caso agitare a temperatura ambiente fino a completa dissoluzione dei cristalli; per una maggiore precisione diluire tutto il flacone della soluzione di lavaggio concentrata a 500 mL, avendo cura di trasferire anche i cristalli, poi agitare fino a completa dissoluzione dei cristalli.

6.3. Preparazione del campione

La determinazione dell'Estriolo totale si effettua su siero o plasma umano.

Se il dosaggio non viene effettuato lo stesso giorno del prelievo conservare il campione a -20°C. Evitare cicli di congelamento e scongelamento del campione.

6.4. Procedimento

- **Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (22-28°C) per almeno 30 minuti.** Al termine del dosaggio riporre immediatamente tutti i reagenti a 2-8°C: evitare lunghi periodi a temperatura ambiente.
- Le strisce di pozzetti non utilizzate devono essere rimesse immediatamente nella busta richiudibile contenente il materiale essicante e conservate a 2-8°C.
- Per evitare potenziali contaminazioni microbiche e/o chimiche non rimettere i reagenti inutilizzati nei flaconi originali.
- Al fine di aumentare l'accuratezza dei risultati del test è necessario operare in doppio, allestendo due pozzetti per ogni punto della curva di calibrazione (C₀-C₄), due per ogni Controllo, due per ogni Campione ed uno per il Bianco.

Reagente	Calibratori	Campione /Controllo	Bianco
Campione /Controllo		20 µL	
Calibratori C ₀ -C ₄	20 µL		
Conjugate	200 µL	200 µL	
Incubare 1 h a +37°C. Allontanare la miscela di reazione; lavare i pozzetti 3 volte con 0,3 mL di wash solution diluita. Nota importante: ad ogni step di lavaggio, agitare delicatamente la piastra per 5 secondi e successivamente rimuovere l'eccesso di soluzione di lavaggio sbattendo delicatamente la micropiastra capovolta su fogli di carta assorbente. Lavaggi automatici: se si utilizza strumentazione automatica effettuare almeno 5 lavaggi.			
TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
Incubare 15 minuti a temperatura ambiente (22÷28°C), al riparo dalla luce.			
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
Agitare delicatamente la micropiastra. Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro una lunghezza d'onda di riferimento di 620-630 nm oppure contro il Bianco entro 5 minuti.			

7. CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio dovrebbe analizzare i campioni nella gamma dei livelli elevati, normali e bassi di Estriolo totale per il controllo delle prestazioni dell'analisi. Questi campioni dovrebbero essere trattati come

ignoti ed i valori determinati in ogni test effettuato. Le tabelle di controllo qualità dovrebbero essere effettuate per seguire le prestazioni dei reagenti forniti. Metodi statistici adeguati dovrebbero essere impiegati per accertare il trend. Il laboratorio dovrebbe fissare i limiti di accettabilità di prestazioni dell'analisi. Altri parametri che dovrebbero essere controllati includono le intercette di 80, 50 e 20% della curva di calibrazione per valutare la riproducibilità. In più, la capacità di assorbimento massima dovrebbe essere costante con l'esperienza precedente. Deviazioni significative rispetto alle prestazioni stabilite possono indicare un inosservato cambio di condizioni sperimentali o una degradazione dei reagenti kit. Devono essere usati reagenti freschi per determinare la ragione delle variazioni.

8. RISULTATI

8.1. Estinzione Media

Calcolare l'estinzione media (Em) di ciascun punto della curva di calibrazione (C₀-C₄) e di ogni campione.

8.2. Curva di calibrazione

Tracciare il grafico dell'assorbanza in funzione delle concentrazioni dei Calibratori (C₀-C₄). Tracciare la miglior curva passante per i punti di calibrazione (es: Four Parameter Logistic)..

8.3. Calcolo dei risultati

Interpolare, dal grafico, i valori di assorbanza relativi a ciascun campione e leggerne la corrispondente concentrazione in ng/mL.

9. VALORI DI RIFERIMENTO

Le concentrazioni seriche di Estriolo sono comprese nei seguenti intervalli:

Settimane	Mediana	Range (ng/mL)
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°	68,0	(41 - 105)
27°	57,4	(41 - 110)
28°	78,0	(38 - 127)
29°	87,0	(45 - 146)
30°	75,0	(45 - 160)
31°	88,0	(50 - 170)
32°	90,5	(46 - 175)
33°	100,0	(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)

È importante tenere presente che la determinazione di un range di valori attesi in un dato metodo per una popolazione "normale" è dipendente da molteplici fattori, quali la specificità e sensibilità del metodo in uso, e la popolazione in esame. Perciò ogni laboratorio dovrebbe considerare i range indicati dal Fabbricante come un'indicazione generale e produrre range di valori attesi propri basati sulla popolazione indigena dove il laboratorio risiede.

10. PARAMETRI CARATTERISTICI

10.1. Precisione

10.1.1. Intra-Assay

La variabilità all'interno dello stesso kit è stata determinata replicando (16x) la misura di tre differenti sieri. La variabilità intra-assay è 9,9%.

10.1.2. Inter-Assay

La variabilità tra kit differenti è stata determinata replicando (10x) la misura di tre differenti sieri con kit appartenenti a lotti diversi. La variabilità inter-assay è 10,3%.

10.2. Accuratezza

La prova di recupero condotta su tre campioni arricchiti con 5,5 - 11 - 22 - 44 ng/mL di Estriolo, ha dato un valore medio (\pm SD) di 103,02% \pm 4,45%.

La prova di diluizione condotta su tre campioni diluiti 2 e 4 volte ha dato un valore medio (\pm SD) di 107,86% \pm 3,50%.

10.3. Sensibilità

La concentrazione minima di Estriolo totale misurabile che può essere distinta dal Calibratore 0 è 1,05 ng/mL con un limite di confidenza del 95%.

10.4. Specificità: cross reagenti

L'anticorpo impiegato presenta le seguenti reazioni crociate, calcolate al 50% secondo Abraham:

Cross reagente	Cross reattività %
Estriol	100 %
16 epi-estriol	10,5 %
15 α OH-estriolo	7,0 %
Estriol 3 Solfato	2,0 %
Estradiolo	0,1 %
17 epi-estriol	< 1x10 ⁻² %
Estriol 3 α -Glucuronate	< 1x10 ⁻² %
Estriol 16 α -Glucuronate	< 1x10 ⁻² %
Estrone	< 1x10 ⁻⁴ %

10.5. Specificità: sostanze interferenti

L'interferenza da Bilirubina (coniugata e non coniugata), Emoglonina e Trigliceridi è stata testata con il kit Diametra Total Estriol ELISA:

Sostanza	Conc. testata	Interferenza
Bilirubina coniugata	0.2 mg/mL	No
Bilirubina non coniugata	0.2 mg/mL	No
Emoglobina	2 mg/mL	No
Trigliceridi	6 mg/mL	No

Non è stata osservata interferenza con nessuna delle sostanze indagate; per le buone pratiche di laboratorio, si raccomanda comunque di non utilizzare campioni altamente lipemici o emolizzati.

10.6. Specificità: plasma e SST tube

È stata valutata l'interferenza in campioni plasmatici e in campioni ottenuti con SST (serum separation tube). Come riferimento è stato utilizzato siero ottenuto dal medesimo paziente.

Campione	Interferenza
SST (serum separation tube)	No
EDTA plasma	No
Litio-eparina plasma	No
Sodio-eparina plasma	No

Non sono state osservate interferenze.

10.7. Correlazione

Il nuovo kit Total Estriol ELISA Diametra è stato comparato con il precedente kit Total Estriol ELISA Diametra. Sono stati testati i campioni di siero di 35 soggetti.

La curva di regressione è:

$$Y = 1,02 \cdot X - 1,88$$

$$r^2 = 0,969$$

11. DISPOSIZIONI PER LO SMALTIMENTO

I reagenti devono essere smaltiti in accordo con le leggi locali

BIBLIOGRAFIA

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

Ed. 03/2017

DCM019-8

DiaMetra S.r.l. Headquarter: Via Calabria 15,
20090 SEGRATE (MI) Italy

Tel. +39-02-2139184

Fax +39-02-2133354

Manufactory: Via Pozzuolo 14,
06038 SPELLO (PG) Italy

Tel. +39-0742-24851

Fax +39-0742-316197

E-mail: info@diametra.com



DCM019-8
Ed. 03/2017

1

TOTAL ESTRIOLELISA

for routine analysis

Direct immunoenzymatic determination of Total Estriol in human serum or plasma

IVD



LOT

See external label

2°C 8°C



Σ = 96 tests

REF DKO019

INTENDED USE

Competitive immunoenzymatic colorimetric method for quantitative determination of Total Estriol concentration in human serum or plasma. Total Estriol kit ELISA is intended for laboratory use only.

1. CLINICAL SIGNIFICANCE

Estriol (also oestriol) is one of the three main estrogens produced by the human body. It is only produced in significant amounts during pregnancy as it is made by the fetus. During pregnancy the production of estriol depends on an intact maternal-placental-fetal unit. Fetal-placental production of estriol leads to a progressive rise in maternal circulating levels reaching a late-gestational peak several orders of magnitude greater than non-pregnant levels. In the maternal circulation, estriol undergoes rapid conjugation in the liver followed by urinary excretion with a half-life of ~20 minutes. Since normal estriol production depends on an intact maternal-placental-fetal circulation and functional fetal metabolism, maternal estriol levels have been used to monitor fetal status during pregnancy, particularly during the third trimester. DHEA is produced by the adrenal cortex of the fetus, this is converted to estriol by the placenta. If levels are abnormally low in a pregnant woman, this may indicate a problem with the development in the child. Levels of estriol in non-pregnant women do not change much after menopause, and levels are not significantly different from levels in men.

2. PRINCIPLE

Total Estriol (antigen) in the sample competes with the antigenic estriol conjugated with horseradish peroxidase (HRP) for binding to the limited number of antibodies anti estriol coated on the microplate (solid phase). After incubation, the bound/free separation is performed by a simple solid-phase washing. Then the enzyme HRP in the bound-fraction reacts with the Substrate (H₂O₂) and the TMB Substrate and develops a blue color that changes into yellow when the Stop Solution (H₂SO₄) is added. The colour intensity is inversely proportional to the Total Estriol concentration in the sample. Total Estriol concentration in the sample is calculated based on a serie of standards.

3. REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

3.1. Reagents and materials supplied in the kit

- Calibrators** (5 vials, 1 mL each)

CAL0	REF DCE002/1906-0
CAL1	REF DCE002/1907-0
CAL2	REF DCE002/1908-0
CAL3	REF DCE002/1909-0
CAL4	REF DCE002/1910-0
- Controls** (2 vials, 1 mL each)

Control A	REF DCE045/1903A-0
Control B	REF DCE045/1903B-0

 Concentration of Controls is indicated on the Certificate of Analysis
- Conjugate** (1 vial, 22 mL)
Estriol conjugated with horseradish peroxidase (HRP)
REF DCE002/1902-0
- Coated Microplate** (1 breakable microplate)
Anti estriol antibody adsorbed on microplate
REF DCE002/1903-0
- TMB Substrate** (1 vial, 15 mL)
H₂O₂-TMB 0.26 g/L (avoid any skin contact)
REF DCE004-0
- Stop Solution** (1 vial, 15 mL)
Sulphuric acid 0.15 mol/L (avoid any skin contact)
REF DCE005-0
- 10X Conc. Wash Solution** (1 vial, 50 mL)
Phosphate buffer 0.2M pH 7.4 REF DCE054-0

3.2. Reagents necessary not supplied

Distilled water.

3.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser.

Microplates reader (450 nm, 620-630 nm)

Note

Store all reagents between 2-8°C in the dark.

Open the bag of reagent 4 (Coated Microplate) only when it is at room temperature and close it immediately after use; once opened, it is stable until expiry date of the kit.

Do not remove the adhesive sheet from the unused strips.

4. WARNINGS

- This kit is intended for in vitro use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
- Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Some reagents contain small amounts of Proclin 300^R as preservatives. Avoid the contact with skin or mucosa.
- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.
- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous and corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H₂O₂ to directed sunlight, metals or oxidants. Do not freeze the solution.
- This method allows the determination of Total Estriol from 2 ng/mL to 200 ng/mL.
- The clinical significance of Estriol determination can be invalidated if the patient was treated with natural or synthetic steroids.

5. PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction For Use.
- All reagents should be stored refrigerated at 2-8°C in their original container. Any exceptions are clearly indicated. The reagents are stable until the expiry date when stored and handled as indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22-28°C) and mix well prior to use.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vials labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.
- If you use automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately tested.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10

minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate

- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of the reagents.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.

6. PROCEDURE

6.1. Preparation of the Calibrators and Controls

The Calibrators are ready to use and have the following concentration of Estriol:

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
ng/mL	0	2	20	80	200

The Controls are ready to use.

Once opened, Calibrators and Controls are stable for 6 months at 2-8°C.

6.2. Preparation of Wash Solution

Dilute the content of each vial of the "10X Conc. Wash Solution" with distilled water to a final volume of 500 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:10 dilution ratio. The diluted wash solution is stable for 30 days at 2-8°C.

In concentrated wash solution is possible to observe the presence of crystals; in this case mix at room temperature until the complete dissolution of crystals; for greater accuracy, dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500 mL, taking care to transfer completely the crystals, then mix until crystals are completely dissolved.

6.3. Preparation of the Sample

The determination of total Estriol should be performed in human serum or plasma.

Store samples at -20°C if the determination is not performed on the same day of the sample connection. Avoid repetitive freezing and thawing of samples.

6.4. Procedure

- **Allow all reagents to reach room temperature (22-28°C) for at least 30 minutes.** At the end of the assay, store immediately the reagents at 2-8°C: avoid long exposure to room temperature.
- Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2-8°C.
- To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
- As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the calibration curve (C₀-C₄), two for each Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Calibrator	Sample/ Control	Blank
Sample/ Control		20 µL	
Calibrator C ₀ -C ₄	20 µL		
Conjugate	200 µL	200 µL	
Incubate at 37°C for 1 hour. Remove the content from each well; wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution. Important note: during each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel. Automatic washer: if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.			
TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate at 22÷28°C for 15 minutes in the dark.			
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
Shake gently the microplate. Read the absorbance (E) at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against Blank within 5 minutes.			

7. QUALITY CONTROL

Each laboratory should assay controls at normal, high and low levels range of Total Estriol for monitoring assay performance. These controls should be treated as unknowns and values determined in every test procedure performed.

Quality control charts should be maintained to follow the performance of the supplied reagents. Pertinent statistical methods should be employed to ascertain trends. The individual laboratory should set acceptable assay performance limits. Other parameters that should be monitored include the 80, 50 and 20% intercepts of the calibration curve for run-to-run reproducibility. In addition, maximum absorbance should be consistent with past experience. Significant deviation from established

performance can indicate unnoticed change in experimental conditions or degradation of kit reagents. Fresh reagents should be used to determine the reason for the variations.

8. RESULTS

8.1. Mean Absorbance

Calculate the mean of the absorbances (E_m) for each point of the calibration curve (C₀-C₄) and of each sample.

8.2. Calibration curve

Plot the values of absorbance (E_m) of the Calibrators (C₀-C₄) against concentration. Draw the best-fit curve through the plotted points(es: Four Parameter Logistic).

8.3. Calculation of Results

Interpolate the values of the samples on the calibration curve to obtain the corresponding values of the concentrations expressed in ng/mL.

9. REFERENCE VALUES

Serum concentrations of Estriol are included in the following ranges:

Weeks	Median	Range (ng/mL)
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)

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a "normal" population in a given method is dependent

on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation. Therefore each laboratory should consider the range given by the Manufacturer as a general indication and produce their own range of expected values based on the indigenous population where the laboratory works.

10. PERFORMANCE AND CHARACTERISTICS

10.1. Precision

10.1.1. Intra Assay Variation

Within run variation was determined by replicate (16x) the measurement of three different sera in one assay. The within assay variability is 9.9%.

10.1.2. Inter Assay Variation

Between run variation was determined by replicate (10x) the measurement of three different sera in different lots of kit. The between assay variability is 10.3%.

10.2. Accuracy

The recovery of 5.5 - 11 - 22 - 44 ng/mL of Estriol gave an average value (\pm SD) of 103.02% \pm 4.45% with reference to the original concentrations.

The dilution test performed on three sera diluted 2 and 4 times gave an average value (\pm SD) of 107.86% \pm 3.50%

10.3. Sensitivity

The lowest detectable concentration of Total Estriol that can be distinguished from the Calibrator 0 is 1.05 ng/mL at the 95% confidence limit.

10.4. Specificity: cross reagent

The cross reaction of the antibody calculated at 50% according to Abraham are shown in the table:

Cross-reagent	Cross reactivity (%)
Estriol	100 %
16 epi-estriol	10.5 %
15 α OH-estriol	7.0 %
Estriol 3 Sulphate	2.0 %
Estradiol	0.1 %
17 epi-estriol	< 1x10 ⁻² %
Estriol 3 α -Glucuronate	< 1x10 ⁻² %
Estriol 16 α -Glucuronate	< 1x10 ⁻² %
Estrone	< 1x10 ⁻⁴ %

10.5. Specificity: interfering substances

Interference by Bilirubin (conjugated and unconjugated), Hemoglobin and Triglycerides has been investigated on Diametra Total Estriol ELISA kit:

Substance	Assayed Conc.	Interference
Bilirubin (conjugated)	0.2 mg/mL	No
Bilirubin (unconjugated)	0.2 mg/mL	No
Hemoglobin	2 mg/mL	No
Triglycerides	6 mg/mL	No

No interference has been observed with the substances under investigation; following good laboratory practices, it is anyway advised to avoid to use highly lipemic or haemolysed samples.

10.6. Specificity: plasma and SST tube

Interference in plasma and SST (serum separation tube) samples has been evaluated. Serum obtained from the same patient has been used as reference.

Sample	Interference
SST (serum separation tube)	No
EDTA plasma	No
Lithium heparin plasma	No
Sodium heparin plasma	No

No interference has been observed.

10.7. Correlation

The new Diametra Total Estriol ELISA kit was compared to the old Diametra Total Estriol ELISA kit. 35 serum samples was analysed.

The linear regression curve was calculated:

$$Y = 1.02 \cdot X - 1.88$$

$$r^2 = 0.969$$

11. WASTE MANAGEMENT

Reagents must be disposed off in accordance with local regulations.

BIBLIOGRAPHY

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

Ed. 03/2017

DCM019-8

DiaMetra S.r.l. Headquarter: Via Calabria 15,
20090 SEGRATE (MI) Italy
Tel. +39-02-2139184
Fax +39-02-2133354

Manufactory: Via Pozzuolo 14,
06038 SPELLO (PG) Italy
Tel. +39-0742-24851
Fax +39-0742-316197
E-mail: info@diametra.com



DCM019-8
Ed. 03/2017

1 11 1 1 1

TOTAL ESTRIOL ELISA

para análisis de rutina

Determinación inmunoenzimática de estriol total en suero o plasma humano

IVD



LOT

ver etiqueta externa

2°C 8°C



Σ = 96 ensayos

REF DKO019

USO PREVISTO

Método competitivo inmunoenzimático colorimétrico para la determinación cuantitativa de la concentración de estriol total en suero o plasma humano.

El kit Total Estriol ELISA está destinado al uso en laboratorio exclusivamente.

1. SIGNIFICADO CLÍNICO

El estriol es uno de los tres estrógenos principales producidos por el cuerpo humano. Se produce solo por el feto durante el embarazo.

Durante el embarazo, la producción de estriol depende de una unidad materno-placentaria-fetal intacta. La producción fetal-placentaria de estriol lleva a un aumento progresivo en los niveles circulantes maternos que alcanzan un pico al final de la gestación, notablemente superior con respecto a los niveles de las no embarazadas. En la circulación materna, el estriol se conjuga rápidamente en el hígado y se excreta por vía urinaria, con una vida media de ~20 minutos. Puesto que la producción normal de estriol depende de una circulación materno-placentaria-fetal intacta y de un metabolismo fetal funcional, los niveles maternos de estriol se usan para controlar la condición fetal durante el embarazo, especialmente durante el tercer trimestre.

La DHEA producida por la corteza suprarrenal del feto se convierte en estriol por la placenta.

Unos niveles anormalmente bajos en una mujer embarazada pueden indicar un problema en el desarrollo del niño.

Los niveles de estriol en mujeres no embarazadas, con menopausia y en hombres son similares

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El estriol total (antígeno) presente en la muestra compete con el estriol antigénico marcado con peroxidasa de rabano (HRP) frente al anticuerpo anti-estriol absorbido en la microplaca (fase sólida).

Después de la incubación, la separación de las fracciones libre y unida se obtiene mediante un simple lavado de la fase sólida.

Por último, al reaccionar con el sustrato (H₂O₂) y el Substrato TMB, la enzima HRP presente en la fracción unida desarrolla una coloración azul que se torna amarilla tras añadir la solución de interrupción (H₂SO₄).

La intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de estriol total presente en la muestra.

La concentración de estriol total en la muestra se calcula según una curva de calibración.

3. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

3.1. Reactivos y materiales suministrados en el kit

1. Calibradores (5 frascos, 1 mL cada uno)

CAL0

REF DCE002/1906-0

CAL1

REF DCE002/1907-0

CAL2

REF DCE002/1908-0

CAL3

REF DCE002/1909-0

CAL4

REF DCE002/1910-0

2. Controls (2 frascos, 1 mL cada uno)

Control A

REF DCE045/1903A-0

Control B

REF DCE045/1903B-0

La concentración de los Controles se indica en el certificado de análisis (Certificate of Analysis)

3. Conjugado (1 frasco, 22 mL)

Estriol conjugado con peroxidasa de rabano (HRP)

REF DCE002/1902-0

4. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible)

Anticuerpo anti estriol absorbido en la microplaca

REF DCE002/1903-0

5. Substrato TMB (1 frasco, 15 mL)

H₂O₂ -TMB (0,26 g/L) (evitar el contacto con la piel)

REF DCE004-0

6. Solución de parada (1 frasco, 15 mL)

Ácido sulfúrico 0,15 mol/L (evitar el contacto con la piel)

REF DCE005-0

7. Solución de lavado conc. 10X (1 frasco, 50 mL)

0.2M Tampón fosfato, pH 7,4

REF DCE054-0

3.2. Reactivos necesarios no suministrados en el kit

Agua destilada.

3.3. Material e instrumentación auxiliares

Dispensadores automáticos.

Lector de microplacas (450 nm, 620-630 nm).

Nota

Conservar todos los reactivos a 2-8°C, protegidos de la luz.

Abrir la bolsa del reactivo 4 (Microplaca Recubierta) solo cuando se encuentre a temperatura ambiente y cerrarla inmediatamente después de extraer las tiras que se vayan a utilizar; una vez abierta, permanece estable hasta la fecha de caducidad del kit.

No retirar las hojas adhesivas de las tiras que no se vayan a usar en la sesión de análisis.

4. AVERTENCIAS

- Este kit de ensayo está previsto para usarse in vitro y por personal experto. No es para uso interno o externo en humanos o animales.
- Usar los equipos de protección individual previstos al trabajar con los reactivos suministrados.
- Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) en el manejo de las muestras sanguíneas y sus derivados.
- Materiales de origen animal utilizados para la elaboración de este kit se obtuvieron a partir de animales sanos y las proteínas de bovino se obtuvieron de los países no afectados por la EEB, aun así estos materiales se deben manejar como potencialmente infecciosos.
- Algunos reactivos contienen pequeñas cantidades de Proclin 300^R como conservante. Evite el contacto con la piel y las mucosas.
- El cromógeno TMB contiene un irritante que puede ser dañino si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para prevenir lesiones, evitar la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y con los ojos.
- La solución de parada está formada por una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo, y puede ser tóxico si se ingiere. Para prevenir posibles quemaduras químicas, evitar el contacto con la piel y con los ojos.
- Evite la exposición de los reactivos TMB/H₂O₂ a la luz solar directa, metales u oxidantes. No congelar la solución.
- Este método permite determinar concentraciones de estriol total de 2 ng/mL a 200 ng/mL.
- El suministro de esteroides naturales o sintéticos puede alterar los niveles hemáticos de estriol.

5. PRECAUCIONES

- Respetar rigurosamente la secuencia de los pasos indicados en este protocolo. Los resultados aquí presentados se han obtenido utilizando los reactivos específicos que figuran en estas instrucciones de uso.
- Todos los reactivos deben conservarse a una temperatura controlada de 2-8°C en sus recipientes originales. Todas las excepciones están claramente marcados. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad cuando se almacenan y manipulan de acuerdo con las instrucciones proporcionadas.
- Antes del uso, esperar hasta que todos los componentes del kit y las muestras se encuentren

a temperatura ambiente (22-28°C) y mezclar cuidadosamente.

- No mezclar componentes de kits de lotes distintos. Se debe observar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja y de todas las ampollas. No usar componentes después de la fecha de caducidad.
- Si utiliza un equipo automático, es responsabilidad del usuario asegurar que el equipo ha sido debidamente validada.
- Un lavado incompleto o impreciso y la aspiración insuficiente del líquido de los pocillos ELISA pueden causar una precisión pobre y/o un elevado fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en los sistemas automatizados, se recomienda aumentar el número de lavados.
- Para la reproducibilidad de los resultados, es importante que el tiempo de reacción sea igual para cada pocillo. El tiempo de dispensación de los pocillos no debe superar los 10 minutos; si se prolongara más allá de los 10 minutos, respétese el orden de dispensación. Si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva de calibración en cada plato.
- Al añadir el sustrato TMB inicia una reacción cinética que termina al agregar la solución de interrupción. Tanto el sustrato como la solución de interrupción deben agregarse en la misma secuencia para evitar diferentes tiempos de reacción.
- Observar las directrices para la ejecución del control de calidad en los laboratorios clínicos al comprobar controles y/o pool de sueros.
- Observar la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No use muestras con contaminación microbiana, altamente lipémicas o hemolizadas.
- Los lectores de microplacas leen las DO verticalmente, por tanto no debe tocarse el fondo de los pocillos.

6. PROCEDIMIENTO

6.1. Preparación de los Calibradores y Controles

Los Calibradores son listo para usar y tienen las siguientes concentraciones de Estriol:

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
ng/mL	0	2	20	80	200

Los Controles están listos para usar.

Una vez abiertos, Calibradores y Controles se mantienen estables durante 6 meses a 2÷8°C.

6.2. Preparación de la solución de lavado

Antes del uso, diluir el contenido del frasco de la solución de lavado conc. 10X con agua destilada hasta un volumen de 500 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 1:10. La solución de lavado diluida se mantiene estable a 2÷8°C durante al menos 30 días. En la solución de lavado concentrada es posible observar la presencia de cristales. En ese caso, agitar a temperatura ambiente hasta que los cristales se disuelvan por completo. Para una mayor precisión, diluir todo el frasco de la solución de lavado

concentrada en 500 mL teniendo cuidado para transferir también los cristales y, a continuación, agitar hasta que se disuelvan por completo

6.3. Preparación de la muestra

La determinación de estriol se realiza en suero o plasma humano.

Si la dosificación no se realiza el mismo día de la extracción, conservar la muestra a -20°C. Se recomienda no congelar y descongelar repetidamente las muestras.

6.4. Procedimiento

- **Esperar hasta que todos los reactivos se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C) durante al menos 30 minutos.** Al final del ensayo inmediatamente poner todos los reactivos a 2-8°C para evitar largos periodos a temperatura ambiente.
- Las tiras de pocillos no utilizados se deben guardar de inmediato en la bolsa desechable que contiene desecantes y almacenarse a 2-8°C.
- Para evitar la contaminación microbiana y/o química no regrese porciones de reactivos no usados en los viales originales.
- Para aumentar la precisión de los resultados de la prueba es necesario trabajar en duplicado: preparar dos pocillos para cada punto de la curva de calibración (C₀-C₄), dos para cada control, dos para cada muestra, uno para el blanco.

Reactivo	Calibradores	Muestra/ Control	Blanco
Muestra/ Control		20 µL	
Calibrador C ₀ -C ₄	20 µL		
Conjugado	200 µL	200 µL	
Incubar 1 h a +37°C. Retirar la mezcla de reacción, lavar 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida. Nota importante: agite suavemente la placa durante 5 segundos en cada paso del lavado. Después del último lavado asegúrese haber eliminado completamente la solución de lavado de los pozos, invierta la placa y golpéela repetidas veces contra una servilleta de papel absorbente. Lavados automático: si está utilizando una lavadora automática, lavar los pocillos al menos 5 veces.			
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Incubar 15 minutos a temperatura ambiente (22±28°C), protegida de la luz.			
Solución de parada	100 µL	100 µL	100 µL
Agitar la microplaca con cuidado. Leer la absorbancia (E) a 450 nm frente una segunda lectura de referencia a 620-630 nm o frente al blanco entre 5 minutos.			

7. CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe analizar las muestras a niveles de los rangos bajo, medio y alto de estriol total para supervisar el rendimiento del análisis. Estas muestras deben tratarse como desconocidas y los valores deben determinarse en cada ensayo realizado. Se deben mantener los gráficos de control de calidad para seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Se deben emplear métodos estadísticos adecuados para determinar las tendencias. El laboratorio debe establecer los límites de aceptabilidad del rendimiento del análisis. Entre otros parámetros que se deben controlar, se incluyen las intersecciones de 80, 50 y 20% de la curva de calibración para evaluar la reproducibilidad. Además, la capacidad de absorción máxima debe ser constante con la experiencia anterior. Desviaciones significativas del rendimiento establecido pueden indicar un cambio inadvertido en las condiciones experimentales o la degradación de los reactivos del kit. Se deben usar reactivos frescos para determinar la causa de las variaciones.

8. RESULTADOS

8.1. Absorbancia media

Calcular la extinción media (E_m) de cada punto de la curva de calibración (C₀-C₄) y de cada muestra.

8.2. Curva de calibración

Trazar el gráfico de la absorbancia en función de las concentraciones de los calibradores (C₀-C₄). Trazar la curva de ajuste óptimo para los puntos de calibración (p. ej.: Logística de cuatro parámetros).

8.3. Cálculo de los resultados

Interpolar del gráfico los valores de absorbancia relativos a cada muestra y leer la concentración correspondiente en ng/mL.

9. VALORES DE REFERENCIA

Las concentraciones séricas de estriol se incluyen en los siguientes intervalos:

Semanas	Media	Rango (ng/mL)
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°	68,0	(41 - 105)
27°	57,4	(41 - 110)
28°	78,0	(38 - 127)
29°	87,0	(45 - 146)
30°	75,0	(45 - 160)
31°	88,0	(50 - 170)

32°	90,5	(46 - 175)
33°	100,0	(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)

Es importante señalar que la determinación de un rango de valores esperados en un método dado para una población "normal" depende de muchos factores, tales como la especificidad y sensibilidad del método en uso, y la población en estudio. Por lo tanto, cada laboratorio debe considerar el intervalo especificado por el fabricante como una guía general y producir su propio rango de valores calculados en base al estadístico obtenido por el laboratorio, donde reside la población local.

10. PARÁMETROS CARACTERÍSTICOS

10.1. Precisión

10.1.1. Intraensayo

La variabilidad dentro del mismo kit se ha determinado replicando (16x) la medición de tres sueros distintos. La variabilidad intraensayo es 9,9%.

10.1.2. Interensayo

La variabilidad entre distintos kits se ha determinado replicando (10x) la medición de tres sueros distintos con kits pertenecientes a lotes distintos. La variabilidad interensayo es 10,3%.

10.2. Exactitud

La prueba de recuperación realizada en dos muestras enriquecidas con 5,5 - 11 - 22 - 44 ng/mL de Estriol ha dado un valor medio (\pm SD) de 103,02% \pm 4,45%.

La prueba de dilución a cabo en tres muestras diluidas 2 - 4 veces dio una media (\pm DE) de 107,86% \pm 3,50%.

10.3. Sensibilidad

La concentración mínima medible de Estriol total que puede distinguirse del Calibrador 0 es 1,05 ng/mL con un límite de confianza del 95%.

10.4. Especificidad: reactividad cruzada

El anticuerpo empleado presenta las siguientes reacciones cruzadas, calculadas al 50% según Abraham:

Reactivo	Reactividad %
Estriol	100 %
16-epiestriol	10,5 %
15 α OH-estriol	7,0 %
Estriol 3 sulfato	2,0 %
Estradiol	0,1 %

17-epiestriol	< 1x10 ⁻² %
Estriol 3 α -glucurónido	< 1x10 ⁻² %
Estriol 16 α -glucurónido	< 1x10 ⁻² %
Estrona	< 1x10 ⁻⁴ %

10.5 Especificidad: sustancias interferentes

Se investigó la interferencia de la Bilirrubina (conjugada e no conjugada), Hemoglobina y Triglicéridos:

Sustancia	Concentración	Interferencia
Bilirrubina (conjugada)	0,2 mg/mL	No
Bilirrubina (no conjugada)	0,2 mg/mL	No
Hemoglobina	2 mg/mL	No
Triglicéridos	6 mg/mL	No

Las sustancias investigadas no presentan interferencia con el Kit Diametra Total Estriol ELISA; sin embargo para las buenas prácticas de laboratorio se recomienda no utilizar muestras altamente lipémicas o hemolizadas.

10.6 Especificidad: plasma y "SST Tube"

Se investigó si muestras plasmáticas o muestras obtenidas con "tubos separadores de suero" (SST Tube) presenten algún tipo de interferencia (como referencia se utilizó una muestra del mismo paciente).

Muestra	Interferencia
SST (tubos separadores de suero)	No
EDTA plasma	No
Litio-heparina plasma	No
Sodio-heparina plasma	No

El Kit Diametra Total Estriol ELISA no presenta interferencia.

10.5. Correlación

El kit Diametra Total Estriol ELISA se ha comparado con el kit Diametra Total Estriol ELISA del método anterior. Se probaron 35 muestras de suero.

La curva de regresión es la siguiente:

$$Y = 1,02 * X - 1,88$$

$$r^2 = 0,969$$

11. DISPOSICIONES PARA LA ELIMINACIÓN

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con las leyes locales.

BIBLIOGRAFÍA

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)

Ed. 03/2017

DCM019-8

DiaMetra S.r.l. Headquater: Via Calabria 15,
20090 SEGRATE (MI) Italy
Tel. +39-02-2139184
Fax +39-02-2133354

Manufactory: Via Pozzuolo 14,
06038 SPELLO (PG) Italy
Tel. +39-0742-24851
Fax +39-0742-316197
E-mail: info@diametra.com

	DE ES FR GB IT PT	In vitro Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico In vitro Dispositif medical de diagnostic in vitro In vitro Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico in vitro Dispositivos medicos de diagnostico in vitro		DE ES FR GB IT PT	Hergestellt von Elaborado por Fabriqué par Manufacturer Produttore Produzido por
	DE ES FR GB IT PT	Achtung, Begleitdokumente Precaución, consulte los documentos adjuntos Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement Caution, consult accompanying documents Attenzione, consultare la documentazione allegata Atenção, consultar os documentos de acompanhamento	 yyyy-mm	DE ES FR GB IT PT	Herstellungs datum Fecha de fabricacion Date de fabrication Date of manufacture Data di produzione Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE ES FR GB IT PT	Verwendbar bis Establa hasta (usar antes de último día del mes) Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) Use by (last day of the month) Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE ES FR GB IT PT	Biogefährdung Riesco biológico Risque biologique Biological risk Rischio biologico Risco biológico
	DE ES FR GB IT PT	Gebrauchsanweisung beachten Consultar las instrucciones Consulter le mode d'emploi Consult instructions for use Consultare le istruzioni per l'uso Consultar instruções para uso	LOT	DE ES FR GB IT PT	Chargenbezeichnung Codigo de lote Numero de lot Batch code Codice del lotto Codigo do lote
 $\Sigma = xx$	DE ES FR GB IT PT	Ausreichend für "n" Tests Contenido suficiente para "n" tests Contenu suffisant pour "n" tests Contains sufficient for "n" tests Contenuto sufficiente per "n" saggi Contém o suficiente para "n" testes	CONT	DE ES FR GB IT PT	Inhalt Contenido del estuche Contenu du coffret Contents of kit Contenuto del kit Conteúdo do kit
 Max Min	DE ES FR GB IT PT	Temperaturbereich Límitación de temperatura Limites de température de conservation Temperature limitation Limiti di temperatura Temperaturas limites de conservação	REF	DE ES FR GB IT PT	Bestellnummer Número de catálogo Références du catalogue Catalogue number Numero di Catalogo Número do catálogo
	DE ES FR GB IT PT	Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen Mantener alejado de la luz solar Tenir à l'écart de la lumière du soleil Keep away from sunlight Tenere lontano dalla luce solare Mantenha longe da luz solar			

SUGGERIMENTI PER LA RISOLUZIONE DEI PROBLEMI/TROUBLESHOOTING**ERRORE CAUSE POSSIBILI/ SUGGERIMENTI****Nessuna reazione colorimetrica del saggio**

- mancata dispensazione del coniugato
- contaminazione del coniugato e/o del Substrato
- errori nell'esecuzione del saggio (es. Dispensazione accidentale dei reagenti in sequenza errata o provenienti da flaconi sbagliati, etc.)

Reazione troppo blanda (OD troppo basse)

- coniugato non idoneo (es. non proveniente dal kit originale)
- tempo di incubazione troppo breve, temperatura di incubazione troppa bassa

Reazione troppo intensa (OD troppo alte)

- coniugato non idoneo (es. non proveniente dal kit originale)
- tempo di incubazione troppo lungo, temperatura di incubazione troppa alta
- qualità scadente dell'acqua usata per la soluzione di lavaggio (basso grado di deionizzazione,)
- lavaggi insufficienti (coniugato non completamente rimosso)

Valori inspiegabilmente fuori scala

- contaminazione di pipette, puntali o contenitori- lavaggi insufficienti (coniugato non completamente rimosso)

CV% intrasaggio elevato

- reagenti e/o strip non portate a temperatura ambiente prima dell'uso
- il lavatore per micropiastre non lava correttamente (suggerimento: pulire la testa del lavatore)

CV% intersaggio elevato

- condizioni di incubazione non costanti (tempo o temperatura)
- controlli e campioni non dispensati allo stesso tempo (con gli stessi intervalli) (controllare la sequenza di dispensazione)
- variabilità intrinseca degli operatori

ERROR POSSIBLE CAUSES / SUGGESTIONS**No colorimetric reaction**

- no conjugate pipetted reaction after addition
- contamination of conjugates and/or of substrate
- errors in performing the assay procedure (e.g. accidental pipetting of reagents in a wrong sequence or from the wrong vial, etc.)

Too low reaction (too low ODs)

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too short, incubation temperature too low

Too high reaction (too high ODs)

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too long, incubation temperature too high
- water quality for wash buffer insufficient (low grade of deionization)
- insufficient washing (conjugates not properly removed)

Unexplainable outliers

- contamination of pipettes, tips or containers
- insufficient washing (conjugates not properly removed) too high within-run
- reagents and/or strips not pre-warmed to CV% Room Temperature prior to use
- plate washer is not washing correctly (suggestion: clean washer head)
- too high between-run - incubation conditions not constant (time, CV % temperature)
- controls and samples not dispensed at the same time (with the same intervals) (check pipetting order)
- person-related variation

ERROR / POSIBLES CAUSAS / SUGERENCIAS**No se produce ninguna reacción colorimétrica del ensayo**

- no se ha dispensado el conjugado
- contaminación del conjugado y/o del sustrato
- errores en la ejecución del ensayo (p. ej., dispensación accidental de los reactivos en orden incorrecto o procedentes de frascos equivocados, etc.)

Reacción escasa (DO demasiado bajas)

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado corto, temperatura de incubación demasiado baja

Reacción demasiado intensa (DO demasiado altas)

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado largo, temperatura de incubación demasiado alta
- calidad escasa del agua usada para la solución de lavado (bajo grado de desionización)
- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

Valores inexplicablemente fuera de escala

- contaminación de pipetas, puntas o contenedores- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

CV% intraensayo elevado

- los reactivos y/o tiras no se encontraban a temperatura ambiente antes del uso
- el lavador de microplacas no funciona correctamente (sugerencia: limpiar el cabezal del lavador)

CV% interensayo elevado

- condiciones de incubación no constantes (tiempo o temperatura)
- controles y muestras no dispensados al mismo tiempo (con los mismos intervalos) (controlar la secuencia de dispensación)
- variación en función de los operadores

ERREUR CAUSES POSSIBLES / SUGGESTIONS**Aucune réaction colorimétrique de l'essai**

- non distribution du conjugué
- contamination du conjugué et/ou du substrat
- erreurs dans l'exécution du dosage (par ex., distribution accidentelle des réactifs dans le mauvais ordre ou en provenance des mauvais flacons, etc.)

Réaction trop faible (DO trop basse)

- conjugué non approprié (par ex., ne provenant pas du coffret original)
- temps d'incubation trop court, température d'incubation trop basse

Réaction trop intense (DO trop élevée)

- conjugué non approprié (par ex., ne provenant pas du coffret original)
- temps d'incubation trop long, température d'incubation trop élevée
- mauvaise qualité de l'eau utilisée pour la solution de lavage (bas degré de déionisation)
- lavages insuffisants (conjugué non entièrement éliminé)

Valeurs inexplicablement hors plage

- contamination des pipettes, embouts ou récipients - lavages insuffisants (conjugué non entièrement éliminé)

CV% intra-essai élevé

- les réactifs et/ou les bandes n'ont pas atteint la température ambiante avant usage
- le laveur de microplaques ne lave pas correctement (suggestion : nettoyer la tête du laveur)

CV% inter-essai élevé

- conditions d'incubation non constantes (temps ou température)
- contrôles et échantillons non distribués en même temps (avec les mêmes intervalles) (contrôler l'ordre de distribution)
- variabilité intrinsèque des opérateurs