



## Набор ИФА для определения ПРОЛАКТИНА

**Кат. №** : 4226Z  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DAI (США)

Методика от 10-04-2010

**Внимание:** основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

Анализ	Prolactin ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Конъюгированный пероксидазой ИФА
Диапазон обнаружения	0-200 нг/мл
Образец	50 мкл сыворотки
Специфичность	96 %
Чувствительность	2,0 нг/мл
Общее время	~ 80 мин.
Срок годности	12-14 мес.

### НАЗНАЧЕНИЕ

Для количественного определения концентрации пролактина в сыворотке человека.

*Только для диагностического использования in vitro.*

### ВВЕДЕНИЕ

Человеческий пролактин (лактогенный гормон), что секретируется у мужчин и женщин передней долей гипофиза. Пролактин является одноцепным полипептидным гормоном с молекулярным весом около 23,000 дальтон. Синтезирование и освобождения пролактина связаны с нейроэндокринным контролем, первично с пролактин рилизинг фактором и пролактин ингибитор фактором. У женщин нормально уровень пролактина несколько выше, чем у мужчин, очевидно, есть его эстроген-ассоциированный рост в пубертном периоде и соответствующее уменьшение в период менопаузы. Первичной функцией пролактина является стимулирование развития грудной залозы и лактации. Пролактин также подавляет гонадальную функцию. Во время беременности уровень пролактина увеличивается в 10-20 раз от нормальных значений и уменьшается до нормального уровня на 3-4 неделю после родов. У матерей, кормящих грудью, наблюдается высокий уровень пролактина и его концентрация возвращается до нормального уровня через несколько месяцев. Определения концентрации пролактина используется в диагностике гипоталамично-гипофизарных расстройств. Микроаденомы (маленькие гипофизарные опухоли) могут вызывать гиперпролактинемия, которая иногда ассоциируется с мужской импотенцией. Высокий уровень пролактина часто ассоциируется с галактореей и аменореей. Уровень пролактина увеличивается эстрогенами, тиреотропным рилизинг гормоном (ТРГ) и другими лекарствами, которые имеют допаминергичный механизм. Уровень пролактина увеличивается при ренальных заболеваниях и гипотиреодизме, а также в некоторых случаях при стрессах, физических нагрузках и гипогликемии. К тому же, пролактин освобождается эпизодически и показывает суточную вариацию. Это нужно принимать во внимание при интерпретации слегка повышенной концентрации пролактина. Уровень пролактина также может увеличиваться под действием лекарств, таких как хлорпромазин, резерпин и может понижаться под действием бромокриптин и L-допа.

### ПРИНЦИП ТЕСТА

Данный набор предназначен для количественного определения пролактина методом твердофазного иммуноферментного анализа. Анализ использует одно анти-пролактин антитело для твердофазной (микротитрационные ячейки) иммобилизации и другое мышинное моноклональное анти-пролактин антитело в растворе антитело-энзим (пероксидаза хрена) конъюгате. Образцы теста реагируют одновременно с антителами, в результате молекулы протеина будут в сэндвиче твердо-фазными и ферментно-связанными антителами. После 60 минутной инкубации при комнатной температуре, ячейки промываются для удаления

несвязанных меченных антител. Добавляется раствор ТМБ и инкубируется 20 минут, в результате развивается голубой цвет. Развитие цвета останавливается добавлением стоп раствора, и цвет изменяется на желтый и измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Концентрация пролактина прямо пропорциональна интенсивности цвета образца.

### МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

#### Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми антителами.
- Набор референтных стандартов, содержащих 0, 5, 20, 50, 100 и 200 нг/мл пролактина человека, лиофилизированные.
- Ферментный конъюгат, 12 мл.
- ТМБ-субстрат, 12 мл.
- Стоп-раствор (2N HCl), 12 мл.
- Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

#### Материалы, не входящие в состав поставки:

- Высокоточные пипетки: 50-200 мкл и 1,0 мл.
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель или аналог.
- Промокательная бумага или бумажное полотенце.
- Бумага для построения графиков.
- Микротитрационный луночный считыватель.

### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотку получают из проб цельной крови, взятых подходящим способом. Набор предназначен для работы с образцами сыворотки без добавок.

### ХРАНЕНИЕ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Невыскранные наборы после получения следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем. Чтобы минимизировать попадание влажного воздуха. Набор анализа может использоваться в течении срока годности (Один год от даты производства). Срок годности указан на этикетке упаковки. Вскрытые наборы остаются стабильными до окончания срока пригодности при хранении согласно инструкции. Подходящим является микропланшетный считыватель с шириной дорожки 10 мм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм.

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-22°C).
2. Разведите каждый лиофилизированный стандарт 0,5 мл дистиллированной воды. Выдержите разведенный материал 20 минут. Разведенные стандарты должны храниться при 2-8°C и сохраняют стабильность в таких условиях две недели.
3. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) в дистиллированной воде, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок с антителами в рамку для стрипов. Сделайте лист данных с идентификацией образца.
2. Внесите по 50 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте содержимое лунок в течении 10 секунд. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-25°C) в течение 60 мин.
6. Удалите содержимое лунок.
7. Промойте лунки 5 раз промывочным буфером (1x).
8. Резко ударить планшет с лунками о промокательную бумагу или бумажные полотенца для удаления всех остатков жидкости.
9. Внесите по 100 мкл раствора ТМБ в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в темном месте в течении 20 мин.
11. Остановите реакцию внесением 100 мкл стоп-раствора в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешивайте на протяжении 5 сек. до смены окраски раствора на желтую.
13. Используя считыватель для планшетов измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм.

**Внимание:**

Процедура промывки имеет большое значение. При недостаточно тщательном промывании результаты будут неточными, и уровень поглощения будет завышен.

**ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Рассчитать средние значения поглощения ( $A_{450}$ ) для каждого стандарта, контрольных сывороток и образцов. На бумаге для графиков построить калибровочную кривую, откладывая на вертикальной оси (Y) значение поглощения для каждого стандарта против его концентрации в нг/мл на горизонтальной оси (X). С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию пролактина в нг/мл.

**ПРИМЕР КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ**

Результаты получают со считыванием оптической плотности при 450 нм на оси Y по отношению к концентрациям пролактина на оси X. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета концентраций пролактина в образцах.

Пролактин (нг/мл)	Поглощение (450 нм)
0	0,010
5,0	0,121
20,0	0,472
50,0	1,158
100,0	2,022
200,0	3,077

(Пример кривой см. в оригинале инструкции)

**ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ**

Для каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные значения уровней пролактина, соответствующие нормальным, на основании популяции пациентов. Основываясь на ограниченном числе образцов крови здоровых взрослых, среднее значение концентрации пролактина в мужчин (к-во=90) и женщин (к-во=120) составляет 6 и 15 нг/мл соответственно.

**Диапазон нормы:** диапазон нормы для пролактина плазмы равен 1-25 нг/мл для женщин и 1-20 нг/мл для мужчин. При этом очевиден эстроген связанный рост в пубертный период и соответствующее уменьшение в период менопаузы. Уровень пролактина в период беременности увеличивается в десять – двадцать раз от нормального уровня. Концентрация пролактина падает после родов, уменьшаясь до нормального уровня за 3-4 недели. Уменьшение пролактина более медленное у кормящих матерей.

Информация ниже предоставлена из ссылок ниже. Каждая лаборатория должна устанавливать свои собственные диапазоны нормы, ссылаясь на своих пациентов.

<b>Мужчины</b>	3,0 – 14,7 нг/мл
<b>Женщины</b>	3,8 – 23,2 пг/мл
<b>Беременность, 3-й триместр:</b>	95,0 – 473 нг/мл

Минимально определяемая концентрация пролактина человека в этом анализе равна 2 нг/мл.

**ЛИТЕРАТУРА:**

(См. в оригинале инструкции).

**ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:**

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
 Тел.: (0342) 775122  
 Тел/факс: (0342) 775612  
 E-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)