

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОЛАКТИНА В СЫВОРОТКЕ

### EIA-1291, Prolactin ELISA

Каталог. № : EIA-1291  
Количество : 96  
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 12-2013  
Версия 8.0



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

#### 1. Назначение использования

DRG Пролактин ИФА является иммуноферментным анализом для количественного In Vitro диагностического определения Пролактина в сыворотке крови.

#### 2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор DRG пролактин EIA есть твердофазный энзимно-связанный иммуносорбентный набор (ELISA), основанный на принципе «сэндвича». Микротитрационные лунки, покрытые моноклональным антителом к единственному в своем роде антигенным детерминантам на пролактин-моллекулу. Сыворотка пациентов, с эндогенным пролактином инкубируется в лунках, покрытых энзимным конъюгатом (анти-пролактин-сыворотка, конъюгирована с пероксидазой). После инкубации несвязанный конъюгат вымывается водой. Количество связанной пероксидазы пропорционально концентрации пролактина в образцах. После добавления раствора субстрата, насыщенность определяемого цвета пропорциональна концентрации пролактина в сыворотке.

#### 3. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

- Для диагностики in vitro.
- Этот набор может содержать реагенты, приготовленные из человеческой сыворотки или плазма. Использованные сыворотка или плазма тестировались методом, утвержденным FDA, и найдено, что они не содержат антител к ВИЧ-1/2, HCV и HBsAg. Тем не менее, так как не существует метода, дающего полную гарантию отсутствия ВИЧ, HCV, вируса гепатита В или каких-либо других инфекционных агентов, то с данными реагентами надо обращаться как с потенциально инфекционно-опасным материалом.
- Перед началом анализа внимательно прочитайте инструкцию. Используйте действующую версию, что поставляется с набором.
- Микропланшет содержит отдельные стрипы. Храните неиспользованные стрипы при 2-8 °C в запечатанном пакете.
- Пипетирование образцов и реагентов необходимо проводить быстро и в одинаковом порядке.
- Не используйте один резервуар для разных реагентов. Особенно это касается резервуара для субстрата. Использование резервуара для раствора субстрата после его использования для конъюгата может привести к изменению окраса. Не вливайте реагенты назад в флакон, это может привести к контаминации.
- Тщательно перемешивайте содержимое ячеек для получения достоверных результатов, не используйте микроячейки повторно.
- Не допускайте высыхания ячеек во время анализа; добавляйте реагенты немедленно после шагов промывания.
- Приведите реагенты к комнатной температуре (21-26°C) перед началом теста. Температура влияет на считанную абсорбцию. Однако на значения пациентов это не влияет.
- Не пипетируйте ртом и избегайте контакта кожи и слизистых с реагентами.
- Избегайте контактов с кислотой стоп раствора. Это может привести к раздражению кожи и ожогам.
- Используйте одноразовые перчатки при обращении с образцами и реагентами. Микробиологическое загрязнение реагентов или образцов может влиять на результаты.
- При работе необходимо придерживаться регламентированным правилам безопасности.
- Не используйте реагенты после истечения срока пригодности.
- Необходимо придерживаться всех объемов, описанных в инструкции. Оптимальные тестовые результаты будут получены

при использовании калиброванных пипеток и микропланшетного ридера.

- Не смешивайте компоненты разных наборов. Не рекомендуется менять местами лунки разных планшеток даже от одного набора. Наборы могут транспортироваться разными способами, поэтому допускается незначительное различие.
- Избегайте контакта со стоп раствором. Он может вызвать ожоги.
- Некоторые реагенты могут содержать Проклин 300, BND и/или MIT в качестве консервантов. При контакте с кожей или глазами промойте большим количеством воды.
- TMB субстрат может вызвать раздражения кожи или глаз. В случае контакта промойте большим количеством воды.
- Химикалии и приготовленные или использованные реагенты необходимо обрабатывать согласно требованиям безопасности.
- Информация по безопасности содержится в листе данных по безопасности. Лист данных безопасности доступен по требованию.

#### 4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

##### 4.1 Содержимое набора

1. **Микротитровальные лунки**, 12x8 (делимые), покрытые анти-Пролактин моноклональными антителами (96 лунок).
2. **Стандарт (стандарт 0-5)**, 6 фл. (лиофилизированные), 1 мл. Концентрация: 0; 5; 20; 50; 100; 200 нг/мл. Конверсия: 1 нг/мл = 21,1 мМЕд/л. Содержит 0,03% Проклина 300, 0,015% BND и 0.01% MIT в качестве консерванта.
3. **Ферментный конъюгат**, 1 фл., 11 мл, готов к использованию. Анти-Пролактин-антитело, конъюгированное с пероксидазой хрена.
4. **Раствор субстрата**, 1 фл., 14 мл, готов к использованию TMB.
5. **Стоп раствор**, 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 фл., 14 мл, готов к использованию.

Избегайте контакта со стоп-раствором. Может привести к раздражению кожи и ожогам.

**Примечание:** *Дополнительный 0 стандарт для разбавления образцов предоставляется по запросу.*

##### 4.2 Необходимые, но не поставляемые материалы

- Микропланшетный ридер, способный проводить измерения при (450 нм ± 10 нм)
- Калиброванные точные микропипетки
- Абсорбирующая бумага
- Бидистиллированная вода
- Таймер
- Миллиметровая бумага или ПО для обработки данных

##### 4.3 Хранение и стабильность набора

При хранении при 2-8°C не вскрытые реагенты будут сохранять свою активность до окончания срока годности. Не используйте реагенты после срока годности.

Все вскрытые реагенты должны храниться при 2-8°C. Микропланшет необходимо хранить при 2-8°C. После вскрытия пакета, необходимо тщательно его запечатать.

Вскрытый набор сохраняет свою активность в течении 2 месяцев при надлежащем хранении.

##### 4.4 Приготовление реагентов

Приведите все реагенты и стрипы, что будут использоваться к комнатной температуре.

##### Стандарты

Разбавьте лиофилизированное содержимое флакона стандарта с 1,0 мл дистиллированной воды.

**Примечание:** *Разбавленные стандарты стабильны 2 месяца при 2-8°C. Для более длительного хранения – заморозьте до -20°C.*

##### 4.5 Уничтожение набора

Уничтожение набора необходимо делать согласно требованиям по безопасности. Специальная информация для данного продукта указана в листе данных по безопасности.

##### 4.6 Повреждение набора

При повреждении набора или компонентов, необходимо уведомить производителя в течении 1 недели после получения набора. Поврежденные компоненты не должны использоваться в анализе. Их необходимо хранить до получения замены, после чего уничтожить.

#### 5. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для анализа должна использоваться только сыворотка. Использование EDTA или гепариновых образцов может привести к

завышенным величинам, а использование цитратной плазмы может давать заниженные величины.

Не используйте для анализа гемолизированные, иктерические и липемические пробы.

Помните: не должны использоваться образцы, что содержат азид натрия.

## 5.1 ЗАБОР ОБРАЗЦОВ

### Сыворотка:

Соберите кровь венопункцией (напр. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), дайте возможность стечь и отделите сыворотку центрифугированием при комнатной температуре. Не центрифугируйте до полного осада. Для пациентов, что получили антикоагулянтную терапию, может быть необходимо большее время для осада.

## 5.2 Хранение образцов

Образцы должны быть закрытыми и храниться до 5 дней при 2-8°C. Для более длительного периода образцы должны быть заморожены до -20°C и хранить до проведения анализа. Оттаявшие образцы переверните несколько раз перед анализом.

## 5.3 Разбавление образцов

Образцы с начальными значениями высшими, чем наивысший стандарт необходимо разбавить *0 стандартом* и повторно анализировать.

Для вычисления концентрации этот фактор разбавления необходимо учесть.

### Например:

- а) Разбавление 1:10: 10 мкл сыворотки + 90 мкл 0 стандарта (тщательно перемешайте);  
б) Разбавление 1:100: 10 мкл разбавления «1:10» + 90 мкл 0 стандарта (тщательно перемешайте).

## 6. ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

### 6.1 Общие замечания

1. Перед использованием выдержите все реагенты при комнатной температуре. Тщательно перемешайте все реагенты и образцы перед использованием, легко переворачивая без образования пены.
2. После начала теста все этапы нужно выполнять без перерывов.
3. Используйте каждый раз новые пластиковые пипетки для каждого стандарта, образца и контроля для предотвращения перекрестного загрязнения.
4. Абсорбция является функцией времени инкубации и температуры. Приготовьте все необходимое перед началом теста, чтобы не тратить время во время самого теста.
5. В основном энзимная реакция является линейно пропорциональной времени и температуре.
6. Пипетирование всех стандартов, образцов и контролей необходимо закончить в течении 6 минут (помните это при ручном пипетировании).

### 6.2 Проведение анализа

В каждой процедуре должна использоваться стандартная кривая.

1. Закрепите требуемое количество микротитровальных лунок в держателе.
2. Пипеткой внесите **25 мкл** каждого стандарта, контроля и образца, используя новые наконечники, в соответствующие лунки планшета.
3. Добавьте **100 мкл** энзимного конъюгата в каждую лунку планшета.
4. Тщательно перемешайте на протяжении 10 сек. Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
5. Инкубируйте в течении **30 минут** при комнатной температуре.
6. Вытряхните содержимое лунок. Промойте дистиллированной водой 5 раз (**300 мкл** на лунку). Резко встряхните планшетку над фильтровальной бумагой для удаления остатков влаги.

### Важное замечание:

Чувствительность и точность анализа зависит от правильного исполнения процедуры промывания!

7. Добавьте **100 мкл** раствора субстрата в каждую лунку.
8. Инкубируйте **10 минут** при комнатной температуре.
9. Добавьте **50 мкл** стоп реагента в каждую лунку.
10. Измерьте оптическую плотность каждой лунки при **450 нм ± 10 нм** в течении **10 минут** после добавления стоп раствора.

### 6.3 Вычисление результатов

1. Вычислите среднюю абсорбцию для каждого стандарта, контроля и образца.
2. Постройте стандартную кривую откладывая среднюю абсорбцию полученную для каждого стандарта против его

концентрации при значении абсорбции на оси У и концентрации на оси Х.

3. Используя значение средней абсорбции для каждого образца, определите соответствующую концентрацию на стандартной кривой.
4. Автоматические данные, компьютерные программы, кубический сплайн, 4 PL или логарифмический также дают хорошие результаты.
5. Концентрация образцов может считаться со стандартной кривой. Образцы с концентрацией выше, чем концентрация наивысшего стандарта необходимо разбавить. При вычислении концентрации этот фактор разбавления необходимо учитывать.

### 6.3.1. Типичный пример стандартной кривой

Последующие данные используются только в демонстрационных целях и **не должны** использоваться вместо обработки данных во время анализа.

Стандарт	нг/мл	Оптич. ед. (450 нм)
Стандарт 0	0	0,04
Стандарт 1	5	0,13
Стандарт 2	20	0,40
Стандарт 3	50	0,80
Стандарт 4	100	1,34
Стандарт 5	200	1,92

## 7. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Настоятельно рекомендуется, что каждая лаборатория установила собственные нормальные и патологические значения.

При изучении очевидно здоровых взрослых, используя данный набор, были получены следующие данные:

Популяция	Среднее (нг/мл)	СО (нг/мл)	5% процентиль (нг/мл)	95% процентиль (нг/мл)
Мужчины	6,44	5,50	0,94	20,94
Женщины	14,27	5,88	2,39	25,15

## 8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контроли согласно государственным и федеральным правилам. Использование контроля дает возможность повседневной оценки достоверности результатов. Используйте контроли и нормального уровня, и патологического.

Контроли и соответствующие результаты QC лаборатории указаны в QC сертификате, что поставляется с набором. Величины, указанные в данном сертификате соответствуют лоту набора и должны использоваться для сравнения результатов.

Также рекомендуется использовать национальные и международные программы оценки качества для подтверждения достоверности результатов.

Используйте соответствующий статистический метод для анализа величин контроля. Если результаты анализа не попадают в установленные границы материалов контроля, результаты являются не достоверными.

В таком случае проверьте следующие данные: устройства пипетирования и измерения времени; фотометр; даты пригодности реагентов, условия хранения и инкубации, методы аспирации и промывания.

Если не обнаружено ошибки, обратитесь к Вашему поставщику.

## 9. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

### 9.1 Динамический диапазон анализа

Диапазон анализа находится между 0,35-200 нг/мл

### 9.2 Специфичность антител (перекрестная реактивность)

Следующие материалы были проверены на перекрестную реактивность.

Протестированные гормоны	Концентрация	Интенсивность цвета, эквивалентная пролактину в сыворотке (нг/мл)
HGG (WHO 1 <sup>st</sup> IRP75/5370)	62,500 мМЕд/мл	0
	125,000 мМЕд/мл	0
	250,000 мМЕд/мл	0
	500,000 мМЕд/мл	0
TSH (WHO 2 <sup>nd</sup> IRP 80/558)	250 мкМЕд/мл	0
	500 мкМЕд/мл	0
LH (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 68/40)	500 мМЕд/мл	0
	1000 мМЕд/мл	0
FSH (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 75/504)	250 мМЕд/мл	0
	500 мМЕд/мл	0
HGH (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 66/217)	1000 мкг/мл	2,5

### 9.3 Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность была вычислена для среднего плюс два стандартных отклонения 20 репликантов анализа 0 стандарта и равно 0,35 нг/мл.

### 9.4 Точность

#### 9.4.1 Точность в пределах анализа

Образец	1	2	3
Количество копий	10	10	10
Среднее (нг/мл)	6,16	14,10	32,48
Стандартное отклонение	0,28	0,41	1,91
Коэффициент вариации (%)	4,58	2,91	5,87

#### 9.4.2 Точность между анализами

Образец	1	2	3
Количество копий	12	12	12
Среднее (нг/мл)	5,96	12,64	25,99
Стандартное отклонение	0,37	0,71	1,53
Коэффициент вариации (%)	6,22	5,64	5,90

### 9.5 Воспроизводимость

Образцы были обогащены добавлением пролактина раствора при известной концентрации 1:1.

% восстановления был вычислен умножением коэффициента измерений и ожидаемых значений на 100.

Образец	Эндогенный пролактин (нг/мл)	Добавл. пролактин (нг/мл)	Измеренная конц. нг/мл	Ожидаемая* конц. нг/мл	Извлечение %
1	8,4	0,0	8,4		
		10,0	13,8	14,2	97,4
		25,0	29,9	29,2	102,6
		50,0	51,5	54,2	95,1
		100,0	90,0	104,2	86,4
2	20,0	0,0	20,0		
		10,0	22,0	20,0	110,
		25,0	34,3	35,0	98,1
		50,0	52,2	60,0	87,0
		100,0	94,9	110,0	86,3
3	31,8	0,0	31,8		
		10,0	26,2	25,9	101,3
		25,0	40,4	40,9	98,7
		50,0	58,3	65,9	88,4
		100,0	103,7	115,9	89,4

(\*Эндогенный пролактин/2 + добавленный пролактин через 1:1 разбавление сыворотки обогащающим материалом.)

### 9.6 Линейность

Образец	Разведение	Измеренная конц. (нг/мл)	Ожидаемая конц. (нг/мл)	Извлечение, %
1	Неразв.	8,40	8,38	
	1:2	4,22	4,19	100,8
	1:4	1,98	2,09	94,4
	1:8	1,15	1,05	109,9
	1:16	0,58	0,52	111,0
2	Неразв.	20,0	19,96	
	1:2	10,74	9,98	107,6
	1:4	5,56	4,99	111,4
	1:8	2,75	2,49	110,2
	1:16	1,28	1,25	102,2
3	Неразв.	31,80	31,81	
	1:2	14,35	15,91	90,2
	1:4	6,95	7,95	87,4
	1:8	3,55	3,98	89,2
	1:16	1,76	1,99	88,7

## 10. ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Неправильное обращение с образцами или модификация теста может влиять на результаты.

### 10.1 Влияющие вещества

Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0,5 мг/мл) и триглицериды (до 0,9 мг/мл) не влияют на результаты анализа.

### 10.2 Влияние лекарств

До сегодняшнего дня не известны вещества (лекарства), что влияют на результаты анализа.

### 10.3 «Хук-эффект» высокой дозы

Не наблюдалось эффекта до 2000 нг/мл пролактина.

## 11. ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

### 11.1 Достоверность результатов

Тест должен проводиться точно с инструкцией производителя. Также пользователь должен следовать национальным стандартам и законам. Это особенно относится к использованию контролей. Очень важно всегда включать в анализ достаточное количество контролей для оценки достоверности и точности анализа.

Тестовые результаты достоверные, только если контроли попадают в указанные границы и если все другие параметры соответствуют спецификации.

### 11.2 Терапевтическое заключение

Терапевтическое заключение никогда не должно основываться на результатах лабораторных исследований. Оно должно учитывать полностью всю клиническую картину пациента.

Тестовые результаты не должны быть единственным фактором, на основе которого ставится терапевтическое заключение.

### 11.3 Надежность

Любые изменения набора и/или смешивания компонентов разных лотов могут отрицательно влиять на результаты теста.

Такие модификации не могут быть причиной для замены набора.

Любые повреждения при транспортировке набора не являются под ответственностью производителя.



**ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР**

ООО «ДИАМЕБ»  
ул.Черновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)