

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОГЕСТЕРОНА

## EIA-1561, Progesterone

Каталог. № : EIA-1561  
Количество : 96  
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 08-2007  
Версия 5.0



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

### НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения прогестерона в сыворотке и плазме крови.

### 1. ВВЕДЕНИЕ

Прогестерон (прегн-4-ене-3, 20-дион) стероид с кетонной группой в С-3 и двойной связью между С-4 и С-5.

Прогестерон это женский половой гормон, который вместе с эстрогенами регулирует менструальный цикл и особенно важен для подготовки эндотелия к имплантации blastocysta и для поддержания беременности.

У небеременных женщин Прогестерон в основном секретируется желтым телом, а во время беременности основным источником становится плацента.

В небольшом количестве производится надпочечными железами у обоих полов и яичками - у мужчин.

Прогестерон циркулирует в связанном виде с Кортикостероид Связывающим Глобулином (CBG), Половым Гормон Связывающим Глобулином (SHBG) и Альбумином.

Только 2-10% находится в свободном состоянии.

Концентрация широко изменяется в зависимости от фазы цикла, она ниже 1 нг/мл (3,2 нмоль/л) во время фолликулярной фазы и около 10-20 нг/мл (32-64 нмоль/л) во время лютеальной.

Максимальный уровень достигается на 4-7 день после овуляции и остается таким еще 4-6 дней с тем, чтобы уменьшиться до преовуляционного уровня за 24 часа до начала менструации.

Поскольку колебания прогестерона отображают активность фолликула и желтого тела, измерение его концентрации используется для подтверждения овуляции и нормальной функции желтого тела у небеременных.

Если овуляции не было, желтое тело не формируется и циклический подъем уровня прогестерона не наблюдается. Ненормальная его секреция бывает при нерегулярном обновлении эндометрия, дисменорее и лютеальной дисфункции.

Уровни прогестерона изменчивы не только у разных людей, они меняются день ото дня и даже час от часу у одного и того же человека. Таким образом, для диагностики гинекологических заболеваний необходима комбинация методов исследования.

Во время беременности прогестерон продуцируется плацентой и уровни в плазме могут достигать 200 нг/мл и больше.

### 2. ПРИНЦИП ТЕСТА

Набор DRG Прогестерон ELISA базируется на принципе конкуренции и планшеточного разделения.

Ячейки микропланшета покрыты поликлональным антителом, направленным против антигенной стороны молекулы прогестерона.

Эндогенный прогестерон образцов пациентов конкурирует с тестостероном, конъюгированным с пероксидазой конкурируют за связывание с антителом, которым покрыто дно лунок. После инкубации планшет промывается.

Количество связанного конъюгата пероксидазы обратно пропорционально концентрации прогестерона в образце. После добавления раствора субстрата интенсивность развитого окраса обратно пропорционально концентрации прогестерона в образце.

### 3. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

- Для диагностики in vitro.
- Относительно информации по безопасности, которые включены в набор, следуйте листу данных по безопасности.
- 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.

- Избегайте контактов с кислотой стоп раствора. Это может привести к раздражению кожи и ожогам.
- Не пипетируйте ртом и избегайте контакта кожи и слизистых с реагентами.
- Не курите, не пейте, не ешьте и не применяйте косметику в местах работы с реагентами.
- Используйте одноразовые перчатки при обращении с образцами и реагентами. Микробиологическое загрязнение реагентов или образцов может влиять на результаты.
- Обращайтесь с реагентами согласно правилам безопасности.
- Не используйте реагенты после истечения срока пригодности.
- Необходимо придерживаться всех объемов, описанных в инструкции. Оптимальные тестовые результаты при использовании калиброванных пипеток.
- 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.
- Химикалии и приготовленные или использованные реагенты необходимо обрабатывать согласно требованиям безопасности.
- Лист данных безопасности доступен по требованию

### 4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

#### 4.1 Содержание набора

1. Микрострипы, 12x8 стрипов, 96 ячеек, покрытых поликлональным анти-прогестерон антителом
2. Стандарт (стандарт 0-6), 7 фл., 1 мл, готовый к использованию Концентрации: 0-0,3-1,25-2,5-5-15-40 нг/мл Конверсия: 1 нг/мл=3,18 нмоль/л
3. Энзимный конъюгат, 1 фл., 25 мл, готовый к использованию прогестерон, конъюгированный с пероксидазой.
4. Раствор субстрата 1 фл., 25 мл, готовый к использованию ТМВ.
5. Стоп раствор, 1 фл., 14 мл, готовый к использованию H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5M. Избегайте контакта со стоп раствором. Он может вызвать ожег.
6. Раствор для промывания (40x), 1 фл., 30 мл  
Смотр. «Приготовление реагентов»

**Примечание:** Дополнительный 0 стандарт для разбавления образца доступен по запросу.

#### 4.1.1 Необходимые, но не поставляемые материалы

1. Микропланшетный ридер, способный проводить измерения при 450 нм ( $\pm 10$  нм).
2. Калиброванные точные пипетки
3. Абсорбирующая бумага.
4. Дистиллированная вода

#### 4.2 Хранение и стабильность набора

При хранении при 2-8<sup>o</sup>C неповрежденные реагенты будут сохранять свою активность до окончания срока годности. Не используйте реагенты после срока годности.

Все вскрытые реагенты должны храниться при 2-8<sup>o</sup>C. Микропланшет необходимо хранить при 2-8<sup>o</sup>C. Иммуореактивность поверхности лунок на планшете стабильна в плотно упакованном виде с дессикантом после открытия приблизительно 6 недель.

#### 4.3 Приготовление реагентов

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

#### Промывочный раствор

Добавьте деионизированной воды к x40 промывочному буферу (30 мл), чтобы достичь окончательный объем 1200 мл. Промывочный буфер стабилен 2 недели при комнатной температуре.

#### 4.4 Уничтожение набора

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

#### 4.5 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. ОБРАЗЦЫ

Для анализа должна использоваться сыворотка или плазма (EDTA, гепарин или цитратная плазма).

Не используйте для анализа гемолизированные, иктерические и липемические пробы.

Примечание: не должны использоваться образцы, содержащие азид натрия.

### 5.1 Сбор образцов

#### Сыворотка:

Соберите кровь венепункцией (напр. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), дайте возможность стечь и отделите сыворотку центрифугированием при комнатной температуре.

#### Плазма:

Цельная кровь должна быть собрана в центрифужные пробирки, содержащие антикоагулянт и центрифугировать после забора.

(Например, для EDTA плазмы - Sarstedt Monovette – красная крышка - # 02.166.001; для гепариновой плазмы - Sarstedt Monovette – оранжевая крышка - # 02.165.001; для цитратной плазмы - Sarstedt Monovette – зеленая крышка - # 02.167.001)

### 5.2 Хранение образцов

Образцы должны быть закрытыми и храниться до 24 часов 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 10- или 100-кратно *0 стандарт* и повторно анализировать.

Для вычисления концентрации этот фактор разбавления необходимо учесть.

#### Например:

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

## 6. ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

### 6.1 Основные 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.

### 6.2 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Каждый анализ должен включать стандартную кривую.

1. Закрепите нужное количество микротитровальных лунок в держателе.
2. Пипеткой внесите **25 мкл** каждого стандарта, контроля и образца, используя новые наконечники, в соответствующие лунки планшета.
3. Инкубируйте планшетку **5 минут** при комнатной температуре.
4. Добавьте **200 мкл** энзимного конъюгата в каждую лунку планшета. Тщательно перемешайте на протяжении 10 сек. Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
5. Инкубируйте в течении **60 минут** при комнатной температуре.
6. Вытряхните содержимое лунок. Промойте разведенным промывочным раствором три раза (**400 мкл** на лунку). Резко встряхните планшетку над фильтровальной бумагой и промокните остатки влаги.  
**Важное замечание:** Чувствительность и точность анализа зависит от правильного исполнения процедуры промывания!
7. Добавьте **200 мкл** раствора субстрата в каждую лунку.
8. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
9. Добавьте **100 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.

Типичный пример стандартной кривой:

Стандарт	нг/мл	Оптич. единицы
Стандарт 0	0	1,52
Стандарт 1	0,3	1,17
Стандарт 2	1,25	0,88
Стандарт 3	2,5	0,69
Стандарт 4	5,0	0,55
Стандарт 5	15	0,35
Стандарт 6	40	0,13

## ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

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

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

#### Здоровые женщины:

Фолликулярная фаза: 0,2-1,4 нг/мл

Лютеальная фаза: 4-25 нг/мл

Менопауза: 0,1-1,0 нг/мл

#### Здоровые мужчины: 0,1-1 нг/мл

## 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 0-40 нг/мл

#### Специфичность (перекрестная реактивность)

Следующие материалы были проверены на перекрестную реактивность:

Стероид	Перекрестная реакция (%)
Прогестерон	100,00
17α ОН Прогестерон	0,30
Эстриол	< 0,10
Эстрадиол 17β	< 0,10
Тестостерон	< 0,10
11-Дезоксикортикостерон	1,10
DHEA-S	< 0,02
Кортизол	< 0,02
Кортикостерон	0,20
Прегненолон	0,35
Кортизон	< 0,10
11-Дезоксикортизол	0,10

### 9.3 Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность была вычислена для среднего минус два стандартных отклонений 20 репликантов анализа 0 стандарта и равно 0,045 нг/мл.

### 9.4 Точность

Внутри тестовая				Межтестовая			
Образец	n	Среднее нг/мл	КВ %	Образец	n	Среднее нг/мл	КВ %
1	20	0.62	5.4	1	12	0.56	9.96
2	20	4.67	6.9	2	12	4.55	4.34
3	20	10.80	6.8	3	12	10.65	5.59
			6				

### 9.5 Воспроизводимость

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

Ожидаемые значения были вычислены добавлением половины значения, определенных для неразбавленных образцов и половины значений для известных растворов. % восстановления был вычислен умножением коэффициента измерений и ожидаемых значений на 100.

Сыворотка	Добавленная конц. 1:1 (v/v) (нг/мл)	Измеренная конц. нг/мл	Ожидаемая конц. нг/мл	Извлечение %
1	40.0	1.63	20.35	97.8
	15.0	8.45	8.32	101.6
	5.0	3.52	3.32	106.2
	2.5	2.31	2.07	112.0
2	40.0	4.17	22.09	102.7
	15.0	10.45	9.59	109.0
	5.0	4.42	4.59	96.3
	2.5	3.62	3.34	105.6
3	40.0	11.03	25.52	105.6
	15.0	26.94	13.02	95.6
	5.0	12.44	8.02	96.1
	2.5	7.70	6.77	90.9

### Линейность

Сыворотка	Фактор разведения	Измеренная концентрация, нг/мл	Ожидаемая концент., нг/мл	Извлечение, %
1	Не разведенный	1.63	1,63	
	1:2	0.75	0,82	92,0
	1:4	0.46	0,41	111,9
	1:8	0.20	0,20	99,1
	1:16	0.11	0,10	107,0
2	Не разведенный	4.17	4,17	
	1:2	2.30	2,09	110,3
	1:4	1.09	1,04	104,8
	1:8	0.49	0,52	93,3
	1:16	0.23	0,26	87,8
3	Не разведенный	11.03	11,03	
	1:2	5.81	5,52	105,4
	1:4	2.96	2,76	107,2
	1:8	1.50	1,38	108,6
	1:16	0.72	0,69	104,7

## 10. ОГРАНИЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

### 10.1 Влияющие вещества

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

Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0,5 мг/мл) и триглицериды (до 1.8 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 «Эффект крюка» высокой дозы

В данном тесте не обнаружено «эффекта крюка».

## 11. ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

### 11.1 Достоверность результатов

Тест должен проводиться согласно инструкции производителя. Более того, потребитель должен точно соблюдать все правила профессиональной лабораторной практики или другие соответствующие национальные стандарты и/или законы. Это особенно относится к контрольным реагентам. В процессе проведения анализа важно включать достаточное количество контролей для оценки точности теста. Результаты теста действительны, только если они отвечают нормам и если все параметры теста отвечают спецификации теста. В случае любого сомнения свяжитесь с производителем.

### 11.2 Терапевтические заключения

Терапевтические заключения не должны базироваться только на результатах лабораторных исследований, даже если они считаются достоверными согласно п. 11.1. Любой результат является только частью общей клинической картины пациента.

Диагностика инфекционного заболевания не может устанавливаться только на основе единственного результата анализа. Точная диагностика должна учитывать всю клиническую картину пациента (историю, симптомы, серологические данные). Только в случаях, когда лабораторные результаты совпадают с нормами и общей картиной пациента, можно делать терапевтическое заключение. Только результаты этого теста не могут быть основой для терапевтического заключения.

### 11.3 Ответственность

Любое изменение набора и/или замена или компонентов разных лотов с одного набора или с другого может негативно влиять на результаты и весь тест. Такая замена не может быть основой для претензий или просьбы о замене набора.

Претензии в случаях неправильного использования набора лабораторией, исходя из п.11.2, тоже не могут являться действительными. Не смотря на это, в случае любой претензии, в производитель обязывается не повышать значения набора. Производитель не несет ответственности за любое повреждение набора, случившееся вследствие его неправильной транспортировки.



**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)