

НАБІР РЕАГЕНТІВ ПРОЛАКТИН ELISA

Prolactin ELISA

Кат. №: EIA-1291

Дата випуску інструкції: 2013/12
Версія 8.0



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

1 ВСТУП

1.1 Призначення

DRG Пролактин ELISA – це ферментний імуноаналіз для кількісного *in vitro* діагностичного визначення Пролактину в сироватці.

1.2 Короткий опис і пояснення

Людський пролактин (лактотропний гормон) виділяється з передньої доли гіпофізу як у чоловіків так і у жінок (1). Людський пролактин – це однопептидний поліпептидний гормон з молекулярною масою приблизно 23.000 далтонів (2). Вивільнення та синтез пролактину під ендокринним контролем, особливо через фактор вивільнення пролактину та Фактор інгібування пролактину (3).

У жінок, дещо вищі рівні базального пролактину, ніж у чоловіків; очевидно, збільшення естрогену пов'язане зі статевим дозріванням, а його зменшення із менопаузою. Основними функціями пролактину є ініціювати розвиток грудей та підтримати лактацію. Пролактин також пригнічує функцію гонад (4,5).

Під час вагітності, рівні пролактину поступово зростає від 10 до 20 разів у нормі, знижується до рівня невагітних через 3-4 тижні після пологів (4). Матері, які годують грудьми, підтримують високий рівень пролактину, тому може знадобитися кілька місяців для того, щоб повернути концентрації сироватки до рівня невагітних (3,4).

Визначення концентрації пролактину є корисним у діагностиці гіпоталамо-гіпофізарних розладів (3,4).

Мікроаденоми (малі пухлини гіпофізу) можуть викликати гіперпролактинемію, яка іноді асоціюється з чоловічою імпотенцією (6). Високий рівень пролактину зазвичай асоціюється з галактореєю і аменореєю.

Показано, що концентрації пролактину підвищуються естрогенами, тиреотропін-рилізинг гормоном (TRH) і декількома препаратами, що впливають на дофамінергічні механізми (7,8,9,10). Рівні пролактину підвищені при ниркових захворюваннях і гіпотиреозі, і в деяких ситуаціях стресу, фізичних навантажень і гіпоглікемії. Крім того, вивільнення пролактину є епізодичним і демонструє добову варіацію (11). Помірно підвищені концентрації пролактину повинні оцінюватися з урахуванням цих міркувань. Концентрації пролактину також можуть бути збільшені за допомогою препаратів, таких як хлоропромазин і резерпін, і можуть бути знижені бромкриптіном і леводопа (12).

Імунологічний тест DRG Prolactin забезпечує швидкий, чутливий і надійний аналіз. Антитіла, розроблені для тесту, визначають мінімальну концентрацію пролактину людини 0,35 нг / мл. Не існує перехресної реактивності з hCG, TSH, LH, FSH або hGH.

2 ПРИНЦИП ТЕСТУ

Набір ELISA DRG Prolactin - це твердофазний імуоферментний аналіз (ELISA) на основі принципу сендвіча.

Мікротитрові лунки покриті моноклональним [мишачим] антитілом, спрямованим у напрямку до унікальної антигенної ділянки на молекулі пролактину. Аліквоту зразка пацієнта, що містить ендogenous пролактин, інкубують у покритій кон'югатом ферменту лунці, який є антитілом до пролактину, кон'югованим з пероксидазою хрому. Після інкубації незв'язаний кон'югат змивають.

Кількість зв'язаної пероксидази пропорційна концентрації пролактину в зразку.

Додавши розчин субстрату, інтенсивність розробленого кольору пропорційна концентрації пролактину у зразку пацієнта.

3 ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Цей набір призначений тільки для *in vitro* діагностики і професійного використання.
2. Всі реагенти цього набору, які містять сироватку або плазму людини, були протестовані і показали негативний результат на HIV I/II, HBsAg

та HCV по методам схваленим FDA. Однак, не існує методів, які гарантують повну відсутність цих речовин. Тому, всі продукти людської крові, включаючи зразки сироватки, повинні вважатися потенційно небезпечними.

3. Перед початком дослідження прочитайте інструкцію повністю й уважно. Використовуйте дійсну версію інструкції, що постачається з набором. Переконайтеся, що Ви все зрозуміли.
4. Мікропланшет складається з відривних смужок. Невикористані лунки повинні зберігатися при 2-8 °C в пакеті з фольги і використовуватися з рамкою, яка надається з набором.
5. Піпетування зразків і реагентів повинно здійснюватися якнайшвидше і з однаковими часовими інтервалами.
6. Використовуйте резервуари тільки для одного компонента. Це особливо важливо для резервуарів з субстратом. Використання для розливу субстрату резервуару, який спочатку використовувався для розчину кон'югату, може привести до зміни кольору розчину. Не зливайте реагенти назад в флакони, бо це може привести до контамінації реагентів.
7. Для отримання достовірних результатів ретельно перемішайте вміст лунок. Не використовуйте лунки повторно.
8. Не дозволяйте лункам висохнути під час аналізу; додавайте реагенти відразу після промивання.
9. Перед аналізом доведіть всі компоненти до кімнатної температури (21-26 °C). Температура впливає на показання абсорбції. Тим не менш, не буде впливу на зразки пацієнтів.
10. Ніколи не піпетуйте ротом і уникайте контакту реагентів і зразків з шкірою і слизовими.
11. Не можна їсти, пити, палити чи наносити косметику в місці роботи з реагентами.
12. Одягайте одноразові рукавички при внесенні зразків і реагентів. Мікробне забруднення реагентів або зразків може давати хибні результати.
13. Робота з реагентами повинна проводитися відповідно до процедур, затверджених відповідним управлінням біологічної безпеки і регулювання.
14. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
15. Всі зазначені обсяги повинні дотримуватися відповідно до інструкції. Оптимальні результати можливі тільки при використанні каліброваних піпеток і мікропланшетного зчитувача.
16. Не змішуйте і не використовуйте компоненти з різних лотів. Рекоменується не змінювати лунки різних плашок навіть одного лота. Набори можуть транспортуватися або зберігатися в різних умовах і в результаті характеристики зв'язування у плашок можуть відрізнятись.
17. Уникайте контакту зі *Стоп-Розчином*, який містить 0.5M H₂SO₄. Це може викликати подразнення шкіри або опіки.
18. Деякі реагенти містять Проклін 300, BND і/або MIT в якості консервантів. У разі їх контакту з очима або шкірою, промийте цю ділянку водою.
19. Розчин субстрату ТМБ викликає подразнюючий ефект на шкіру і слизові. У разі контакту, промийте очі з великим об'ємом води і шкіру з милом і великою кількістю води. Промийте забруднені об'єкти перед повторним використанням. У разі вдихання реагентів, виведіть людину на свіже повітря.
20. Хімікати і готові і використані реагенти повинні бути утилізовані як біологічно небезпечні відповідно до регіональних норм.
21. Інформацію про небезпечні реагенти, використовувані в цьому наборі, ви можете знайти в Паспорті безпеки. Він також доступний за запитом в DRG.

4 РЕАГЕНТИ

4.1 Реагенти, які постачаються

1. **Мікротитрові лунки:** 12 x 8 (відривні) смужок, 96 лунок; покритих антитілом анти-пролактин (моноклональні).
2. **Стандарт (0-5):** 6 флаконів (ліофілізовані); 1 мл, Концентрації: 0; 5; 20; 50; 100; 200 нг/мл
Конверсія: 1 нг/мл = 21.1 мМО/л
Стандарти відкалібровані відповідно до 3-го Міжнародного Стандарту для Прокліну ВООЗ IRP (84/500).
Див. « Підготовка реагентів »;
Містить нертутий консервант.
3. **Ферментний кон'югат,** 1 флакони, 11 мл, готові до використання; Антитіло до Пролактину кон'юговане з пероксидазою хрому; Містить нертутий консервант.
4. **Розчин Субстрату,** 1 фл., 14 мл, готовий до використання, ТМВ
5. **Стоп-розчин:** 1 фл., 14 мл, готовий до використання, Містить 0.5 M H₂SO₄
Уникайте контакту. Може викликати подразнення та опіки.

Примітка: Додатково Стандарт 0 для розведення зразків доступний за запитом.

4.2 Необхідні матеріали, що не входять до складу набору

1. Мікротитровий планшетний калібрувальний зчитувач (450 ± 10 нм), наприклад, DRG Instruments зчитувач мікротитрових планшетів.
2. Калібровані прецизійні змінні мікропіпетки.
3. Абсорбуючий папір.
4. Дистильована вода.
5. Таймер.
6. Напівлогарифмічний графічний папір або програмне забезпечення для обробки даних.

4.3 Умови зберігання

При зберіганні при 2-8 °C закриті реагенти зберігають стабільність до дати терміну придатності. Не застосовувати реагенти після закінчення терміну придатності. Відкриті реагенти зберігаються при температурі 2-8°C. Мікротитрові лунки зберігаються при температурі 2-8 °C. Після відкриття упаковки з фольги, знову щільно закрийте її. Відкриті набори зберігають активність протягом 2 місяців, якщо вони зберігаються, як описано вище.

4.4 Підготовка реагентів

Привести все реагенти і зразки до кімнатної температури перед початком аналізу.

Стандарти

Розведіть ліофілізований вміст флакону стандарту з 1 мл дистильованою водою.

Примітка: Розведені стандарти стабільні протягом 2 місяців при кімнатній температурі від 2 °C- 8°C. Для довготривалого зберігання заморозити до -20°C.

4.5 Утилізація набору

Утилізацію набору необхідно проводити відповідно до місцевого законодавства. Спеціальна інформація до даного продукту вказана в листі даних безпеки.

4.6 Пошкоджені набори

При значному пошкодженні набору або його компонентів необхідно повідомити виробника на протязі одного тижня після отримання набору. Значне пошкодження компонентів не допускає їх використання для аналізу. До вирішення проблеми, зберігайте дані компоненти, а потім утилізуйте.

5 ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

У цьому дослідженні можна використовувати тільки сироватку. (Використання ЕДТА-, або гепаринових зразків може призвести до збільшених значень, тоді як використання цитратної плазми може призвести до зменшення значень).

Не використовуйте гемолітичні, жовтяничні або ліпемічні зразки.

Зверніть увагу: зразки, що містять азид натрію, не повинні використовуватися в аналізі.

5.1 Забір зразків

Сироватка:

Зібрати кров методом венепункції(напр. Sarstedt Monovette для сироватки); дозволити їй осісти, відділити сироватку, центрифугуючи при кімнатній температурі. Не центрифугуйте, поки не відбулося повне осідання крові. Пацієнтам, котрі проходять антикоагуляційну терапію, треба давати довший період для зсідання крові.

5.2 Зберігання та підготовка зразків

Зразки можуть зберігатись при 2-8 °C до 5 днів до проведення аналізу. Для довшого зберігання зразки повинні бути заморожені до -20 °C. Розморожені зразки слід декілька разів збовтати перед використанням.

5.3 Розбавлення зразків:

Зразки, у яких у початковому аналізі концентрація більша ніж у найвищому стандарті, повинні бути розведені *Нульовим Стандартом* і аналізовані ще раз згідно Процедури Аналізу.

Для розрахунку концентрацій, слід враховувати цей коефіцієнт розведення.

Наприклад:

- a) розведення 1:10: 10 мкл сироватки + 90 мкл *Нульового Стандарту* (повністю перемішати)
- b) розведення 1:100: 10 мкл розведення a) 1:10 + 90 мкл *Нульового Стандарту* (повністю перемішати).

6 ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

6.1 Загальні зауваження

- Приведіть всі реагенти до кімнатної температури перед початком тесту. Всі реагенти змішуйте без утворення піни.
- Після початку тесту всі кроки повинні виконуватись без затримки.
- Використовуйте нові насадки для кожного стандарту, контролю або зразка, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Абсорбція – це функція інкубаційного часу і температури. Перед початком аналізу рекомендується приготувати всі реагенти і складові аналізу. Це забезпечить рівномірний час проведення аналізу без перерви.
- За загальним правилом ферментативна реакція лінійно пропорційна часу і температурі інкубації.
- Піпетування всіх стандартів, зразків та контролів потрібно здійснити протягом 6 хвилин. (Особливо при ручному піпетуванні).

6.2 Процедура аналізу

Для кожного аналізу слід будувати стандартну криву.

1. Закріпіть необхідну кількість лунок в тримачі.
 2. Додайте **25 мкл Стандарту, Контролю** і зразків з **новими наконечниками** у відповідні лунки.
 3. Додайте **100 мкл Ферментного Кон'югату** в кожну лунку. Добре перемішайте протягом 10 секунд. Важливо досягнути повного змішування розчинів на цьому етапі.
 4. Інкубуйте **30 хвилин** при кімнатній температурі.
 5. Різно вилийте вміст лунок. Промийте лунки 5 разів дистильованою водою (300 мкл на лунку). Переверніть лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки вологи.
- Важлива примітка:**
На чутливість та точність цього аналізу помітно впливає правильність виконання процедури промивання!
6. Додайте **100 мкл Розчину Субстрату** в кожну лунку.
 7. Інкубуйте **10 хвилин** при кімнатній температурі.
 8. Зупиніть реакцію додаванням в кожну лунку **50 мкл Стоп-Розчину**.
 9. Визначіть абсорбцію (ОЩ) у кожній лунці при **450±10 нм** за допомогою мікротитрового планшетного зчитувача. Рекомендується зчитати лунки впродовж **10 хвилин** після додавання *Стоп-Розчину*.

6.3 Підрахунок результатів

1. Підрахуйте середню абсорбцію для кожного набору стандартів, контролів та зразків пацієнтів.
2. Побудувати стандартну криву, відклавши значення абсорбції кожного стандарту (на осі Y) навпроти їх концентрацій (відкладених на осі X).
3. Використовуючи значення середньої абсорбції для кожного зразка визначіть відповідну концентрацію зі стандартної кривої.
4. Автоматичний метод: результати в Інструкція з експлуатації були розраховані автоматично з використанням кривої 4 Parameter. (4 Parameter Rodbard або 4 Параметр Marquardt є кращими методами.) Інші функції зменшення даних можуть давати дещо інші результати.
5. Концентрацію зразків можна зчитати прямо з цієї стандартної кривої. Зразки, що мають концентрації вище, ніж у вищому стандарті, повинні бути додатково розведені або заявлені як > 200 нг/мл. Для розрахунку концентрації слід враховувати цей коефіцієнт розведення.

6.3.1 Приклад типової стандартної кривої

Наступні дані тільки для демонстрації і **не можуть** використовуватись при тестуванні.

Стандарт	Оптичні одиниці (450 нм)
Стандарт 0 (0 нг/мл)	0.04
Стандарт 1 (5 нг/мл)	0.13
Стандарт 2 (20 нг/мл)	0.40
Стандарт 3 (50 нг/мл)	0.80
Стандарт 4 (100 нг/мл)	1.34
Стандарт 5 (200 нг/мл)	1.92

7 ОЧІКУВАНІ НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ

Рекомендується для кожної лабораторії встановити свої нормальні та патологічні значення.

У дослідженні, яке проводилося зі здоровими дорослими, використовуючи DRG Пролактину ELISA, отримані такі значення:

Населення	Середнє (нг/мл)	СВ (нг/дл)	5% (нг/мл)	95% (нг/мл)
чоловіки	6.44	5.50	0.94	20.94
жінки	14.27	5.88	2.39	25.15

Тільки самі результати не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Результати повинні співвідноситись з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

8 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Рекомендується використовувати контролю згідно державних і федеральних правил. Використання контролю дає можливість щоденної оцінки достовірності результатів. Використовуйте контролю і нормального рівня і патологічного.

Контролі і відповідні результати QC лабораторії вказані в QC сертифікаті, що поставляється з набором. Величини, вказані в даному сертифікаті відповідають лоту набору і повинні використовуватись для порівняння результатів.

Також рекомендується використовуватись національні і міжнародні програми оцінки якості для підтвердження достовірності результатів.

Використовуйте відповідний статистичний метод для аналізу величин контролю. Якщо результати аналізу не попадають в установленні границі матеріалів контролю, результати являються не достовірними.

В такому випадку перевірте наступні дані: пристрої піпетування і вимірювання часу; фотометр; дати придатності реагентів, умови зберігання і інкубації, методи аспірації і промивання.

Якщо не знайдено помилки, зверніться до Вашого постачальника або до DRG.

9 ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТУ

9.1 Динамічний діапазон аналізу

Динамічний діапазон аналізу: 0.35 – 200 нг/мл.

9.2 Специфічність антитіл (перехресна реактивність)

Наступні речовини були протестовані на перехресну реактивність:

Тестований гормон	Концентрація	Інтенсивність утвореного кольору еквівалентна до пролактину у сироватці (нг/мл)
hCG (WHO 1 st IRP 75/537)	62,500 мМО/мл	0
	125,000 мМО/мл	0
	250,000 мМО/мл	0
	500,000 мМО/мл	0
TSH (WHO 2 nd IRP 80/558)	250 мкМО/мл	0
	500 мкМО/мл	0
LH (WHO 1 st IRP 68/40)	500 мМО/мл	0
	1000 мМО/мл	0
FSH (WHO 2 nd IRP-HMG)	250 мМО/мл	0
	500 мМО/мл	0
hHG (WHO 1 st IRP 66/217)	1000 мкг/мл	2.5

9.3 Чутливість

Аналітична чутливість була обчислена наступним чином: середнє значення додавши два стандартних відхилення до в середньому двадцяти (20) реплік цих аналізів *Нульового Стандарту* і становить 0.35 нг/мл.

9.4 Відтворюваність

9.4.1 Точність в межах аналізу

Зразок	1	2	3
Середнє (нг/мл)	6.16	14.10	32.48
СВ (нг/мл)	0.28	0.41	1.91
КВ (%)	4.58	2.91	5.87
К-сть =	10	10	10

9.4.2 Точність між аналізами

Зразок	1	2	3
Середнє (нг/мл)	5.96	12.64	25.99
СВ	0.37	0.71	1.53
КВ (%)	6.22	5.64	5.90
К-сть	12	12	12

9.5 Відтворюваність

Зразки збагатили додаванням розчинів пролактину з відомими концентраціями в співвідношенні 1:1.

% Відновлення було розраховано шляхом множення коефіцієнта вимірювань і очікуваних значень на 100.

Зразок	Ендогенний пролактин нг/мл	Доданий пролактин нг/мл	Виміряна конц. пролактину нг/мл	Очікуваний* Пролактин нг/мл	Відновлення (%)
1 Сироватка	8.4	0.0	8.4	14.2	97.4
		10.0	13.8	29.2	102.6
		25.0	29.9	54.2	95.1
		50.0	51.5	104.2	86.4
		100.0	90.0		
2 Сироватка	20.0	0.0	20.0	20.0	110.2
		10.0	22.0	35.0	98.1
		25.0	34.3		

		50.0	52.2	60.0	87.0
		100.0	94.9	110.0	86.3
3 Сироватка	31.8	0.0	31.8	25.9	101.3
		10.0	26.2	40.9	98.7
		25.0	40.4	65.9	88.4
		50.0	58.3	115.9	89.4
		100.0	103.7		

(*Ендогенний Пролактин / 2 + доданий Пролактин через співвідношення розведення 1:1 сироватки зі збагачуючим матеріалом.)

9.6 Лінійність

Зразок	Розведення	Вимір. Конц. (нг/мл)	Очік. Конц. (нг/мл)	Відновлення (%)
1	Нерозведений	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	Нерозведений	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	Нерозведений	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 ОБМЕЖЕННЯ ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ

Надійні і відтворювані результати будуть отримані, коли процедура аналізу виконується з повним розумінням інструкції та дотриманням належної лабораторної практики.

Будь-яке неправильне поводження із зразками або модифікація цього випробування може вплинути на результати.

10.1 Інтерферуючі речовини

Будь-яке неправильне використання зразків чи зміна процедури тесту може дати неправильні результати. Гемоглобін (до 4 мг/мл), Білірубін (до 0,5 мг/мл) і тригліцериди (до 0.9 мг/мл) не впливають на результати тесту.

10.2 Взаємодія з лікарськими засобами

Немає інформації щодо ліків, які можуть яким-небудь чином вплинути на визначення Пролактину у зразку.

10.3 «Хук-ефект» високої дози

При проведенні тесту не спостерігалось «хук-ефекту» до 2000 нг/мл Пролактину.

11 ПРАВОВІ ПИТАННЯ

11.1 Надійність результатів

Тест повинен проводитися в точній відповідності з інструкціями виробника. Більш того, користувач має суворо дотримуватися правил НЛП (належної лабораторної практики). Це особливо важливо при використанні контрольних реагентів. Важливо завжди включати відповідну кількість контролів при тестуванні для підтвердження відповідності та точності тесту. Результати тесту дійсні тільки, якщо всі контролю знаходяться в зазначених діапазонах, і якщо всі інші параметри тесту також у вказаних діапазонах. У разі, коли Ви сумніваєтеся, зверніться до виробника.

11.2 Терапевтичні результати

Терапевтичні результати не повинні ґрунтуватися тільки на лабораторних даних, навіть якщо всі результати тесту відповідають значенням, зазначеним у п.11.1. Будь лабораторний результат є тільки частиною клінічної картини.

Діагностика інфекційного захворювання не повинна ґрунтуватися на результатах лише одного тесту. Точний діагноз повинен бути поставлений з урахуванням історії хвороби, симптоматики та серологічних даних.

Тільки результати тесту не можуть бути основою для терапевтичних висновків.

11.3 Відповідальність

Будь-яка модифікація тестового набору та / або заміна або зміна будь-яких компонентів тестового набору можуть негативно вплинути на результати тесту. Такі дії не дадуть права на заміну набору.

Претензії, подані внаслідок неправильного тлумачення результатів лабораторних досліджень згідно з пунктом 11.2. також є недійсними. Незважаючи на будь-яку претензію, відповідальність виробника не повинна перевищувати ціну тестового набору. Виробник не несе відповідальності за пошкодження під час транспортування.



ВИРОБНИК

ДРГ Інструментс ГмбХ
вул. Фраунберг 18, 35039
м. Марбург, Німеччина
Тел: +49(0)64 21/170 00
Факс: +49(0)64 21/17 00 50
www.drq-diagnostics.de
e-mail: drq@drq-diagnostics.de



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

