

СР	7041/2007
	11.10.2012

Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.

Інструкція
з використання тест-системи
для визначення прогестерону в сироватці крові
Прогестерон–ІФА

IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип конкурентного імуноферментного аналізу. У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-прогестерон-антитіла) вносять досліджуваний зразок та кон'югат (прогестерон, мічений пероксидазою). Прогестерон із зразка конкурує з кон'югатом за зв'язок з антигеном на поверхні лунки. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату, та вимірюється при довжині хвилі 450 нм. Інтенсивність кольорової реакції зворотно пропорційна кількості прогестерону в зразку.

Клінічне значення

Прогестерон - стероїдний гормон, секретується жовтим тілом яєчників у жінок, а в період вагітності - плацентою. У невеликій кількості і у чоловіків, і у жінок секретується в кірковому шарі надниркових залоз під впливом лютеотропного гормону (ЛГ), де використовується для біосинтезу кортикостероїдів і андрогенів. Прогестерон називають «гормоном вагітності», оскільки він відіграє визначальну роль у реалізації вагітності. Якщо настає запліднення яйцеклітини, то прогестерон пригнічує синтез гонадотропних гормонів гіпофіза і гальмує овуляцію, жовте тіло не редукується, а продовжує синтезувати гормон аж до 16 тижня, після чого синтез його триває в плаценті. Прогестерон діє на ендометрій разом з естрадіолом, унаслідок чого менструальний цикл переходить із проліферативної фази в секреторну. Рівень прогестерону досягає максимуму на 5-7 день після овуляції, готуючись прийняти запліднену яйцеклітину, у нервовій системі створюється так звана домінанта вагітності, яка готує організм жінки до виношування плоду та пологам. Стимулює ріст матки і пригнічує активність її мускулатури, виявляє імуносупресивну дію - не відбувається відторгнення плодового яйця, стимулює зміни в молочних залозах, готуючи їх для вироблення молока, відбувається збільшення прошарку шкірного сала. Якщо запліднення не відбувається, то жовте тіло редукується через 12-14 днів, концентрація гормону зменшується і настає менструація.

Підвищення значень можливо при станах: вагітність, кіста жовтого тіла, вторинна аменорея, дисфункціональні маткові кровотечі, порушення дозрівання плаценти, ниркова недостатність, порушенні функції надниркових залоз, прийом деяких лікарських препаратів (кортикотропін, кетоконазол, прогестерон і його аналоги, міфепристон, тамоксифен і ін.).

Зниження значень можливо при станах: відсутність овуляції, первинна і вторинна аменорея, недостатня функція жовтого тіла, хронічне запалення жіночих статевих органів, недостатня функція жовтого тіла і плаценти (загроза переривання вагітності), затримка внутрішньоутробного розвитку плоду, істинне переносування вагітності, прийом деяких лікарських препаратів (ампіцилін, пероральні контрацептиви, даназол, естріол, правастатин і ін.).

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір калібраторів та контролю по 0.4 мл, нульовий калібратор - 2 мл (всього 7 калібраторів: 0, 1, 3, 10, 30, 100, 300 нмоль/л; 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 мл (1фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 0.5 нмоль/л.

Очікуванні коливання контролю: 5.5-8.2 нмоль/л.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C.

Повторне заморожування-відтавання не допускається.

Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.
3. **УВАГА!** Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібрувальної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи калібратор 0.

Проведення аналізу

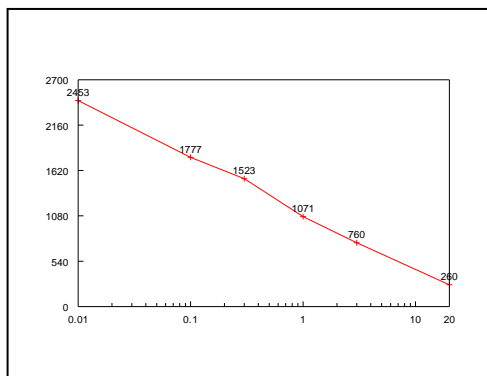
1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 14 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 25 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
3. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте 15-20 хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
10. Використовуйте лінійно-логарифмічний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію прогестерону в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **СВОЮ** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, нмоль/л; вісь Y – ОЩ)

Не використовувати для обчислювання!



Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Дослідна група	Одиниці, нмоль/л	
	нижня межа	верхня межа
Чоловіки		4
Юнаки 12-17 років	0.3	5.3
Жінки		
Дівчини 12-17 років	0.3	41
Менопауза		4
Вагітні:		
1-13 тижнів	36	240
14-27 тижнів	60	240
28-40 тижнів	156	722
Фази циклу:		
фолікулярна фаза	0.6	5.6
лютеїнова фаза	7.5	80
овуляція	11	80

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°C. Не допускається замороження!

Після розкриття пакета **ретельно заклейте** лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61001, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт

Тест-система для визначення
прогестерону в сироватці крові

Прогестерон-ІФА

IN VITRO

Серія **664-5**

Дата виготовлення **18.12.2012**

Термін придатності **18.06.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	Чутливість не менш, нмоль/л	0.5		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, нмоль/л	5.5-8.2		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Набір калібраторів та контролю (всього 7 калібраторів: 0, 1, 3, 10, 30, 100, 300 нмоль/л; 1 контроль)	синій	1 фл. x 2 мл 7 фл. x 0.4 мл	відповідає
2.4	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. x 22 мл	відповідає
2.5	Кон'югат	синій	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.6	Субстрат	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.7	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002