



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

IN VITRO

Зберігати при 4-10°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 0.5 мл (всього 8 калібраторів: 0, 1, 3, 10, 30, 100, 300 нмоль/л; 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 22 мл (1 фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

**Аналітичні характеристики**

Чутливість методу: 0.5 нмоль/л.

Очікуванні коливання контролю: 5.0-15.0 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 4-10°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 у 20 разів дистильованою водою в чистому посуді (1 мл концентрату + 19 мл дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 4-10°C.
3. **УВАГА!** Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібрувальної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи калібратор 0.

#### Проведення аналізу

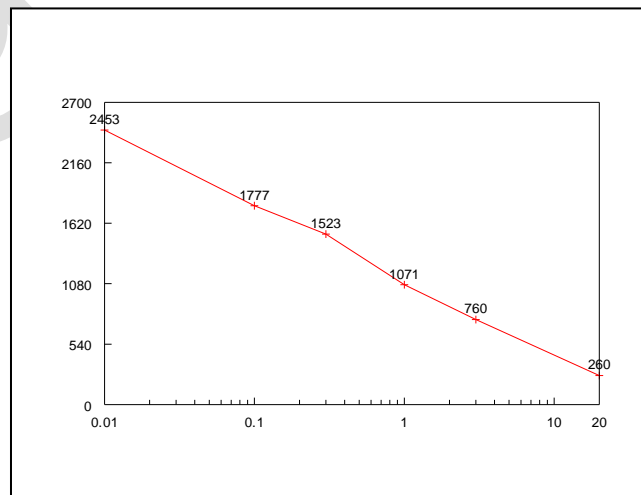
1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 14 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 25 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
3. Внесіть у лунки 200 мкл кон'югату.
4. Інкубуйте 120 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим 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 **своєю** 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 перегорніть 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. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ України від 11.08.2014 р. № 552 «Про затвердження Державних санітарних норм та правил «Дезінфекція, передстерилізаційне очищення та стерилізація медичних виробів в закладах охорони здоров'я».

**Умови зберігання**

Набір повинен зберігатися при температурі від 4-10°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 12 міс. з дня виготовлення набору.