

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОЛАКТИНА

4226-16, Prolactin ELISA

Каталог. № : 4226-16

Методика от 04-09-2015

Количество : 96

Производитель: DAI (США)



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

Анализ	Prolactin ELISA
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Сендвич Комплекс
Диапазон обнаружения	0-200 нг/мл
Образец	50 мкл сыворотки
Специфичность	96 %
Чувствительность	2,0 нг/мл
Общее время	~ 80 мин.
Срок годности	12-14 мес.

НАЗНАЧЕНИЕ

Для количественного определения концентрации пролактина в сыворотке человека.

Только для диагностического использования in vitro.

ВВЕДЕНИЕ

Человеческий пролактин (лактогенный гормон), что секретируется у мужчин и женщин передней долей гипофиза. Пролактин является одноцепным полипептидным гормоном с молекулярным весом около 23,000 дальтон. Синтезирование и освобождения пролактина связаны с нейроэндокринным контролем, первично с пролактин рилизинг фактором и пролактин ингибитор фактором. У женщин нормально уровень пролактина несколько выше, чем у мужчин, очевидно, есть его эстроген-ассоциированный рост в пубертном периоде и соответствующее уменьшение в период менопаузы. Первичной функцией пролактина является стимулирование развития грудной залозы и лактации. Пролактин также подавляет гонадальную функцию. Во время беременности уровень пролактина увеличивается в 10-20 раз от нормальных значений и уменьшается до нормального уровня на 3-4 неделю после родов. У матерей, кормящих грудью, наблюдается высокий уровень пролактина и его концентрация возвращается до нормального уровня через несколько месяцев. Определения концентрации пролактина используется в диагностике гипоталамично-гипофизарных расстройств. Микроаденомы (маленькие гипофизарные опухоли) могут вызывать гиперпролактинемии, которая иногда ассоциируется с мужской импотенцией. Высокий уровень пролактина часто ассоциируется с галактореей и аменореей. Уровень пролактина увеличивается эстрогенами, тиреотропным рилизинг гормоном (ТРГ) и другими лекарствами, которые имеют допаминергичный механизм. Уровень пролактина увеличивается при ренальных заболеваниях и гипотиреозе, а также в некоторых случаях при стрессах, физических нагрузках и гипогликемии. К тому же, пролактин освобождается эпизодически и показывает суточную вариацию. Это нужно принимать во внимание при интерпретации слегка повышенной концентрации пролактина. Уровень пролактина также может увеличиваться под действием лекарств, таких как хлорпромазин, резерпин и может понижаться под действием бромокриптина и L-допа.

ПРИНЦИП ТЕСТА

Данный набор предназначен для количественного определения пролактина методом твердофазного иммуноферментного анализа. Анализ использует одно анти-пролактин антитело для твердофазной (микротитрационной ячейки) иммобилизации и другое мышинное моноклональное анти-пролактин антитело в растворе антитело-ензим (пероксидаза хрена) конъюгате. Образцы теста реагируют одновременно с антителами, в результате молекулы протеина будут в сендвиче твердо-фазными и энзимосвязанными антителами. После 60 минутной инкубации при комнатной температуре, ячейки промываются для удаления

несвязанных меченных антител. Добавляется раствор ТМБ и инкубируется 20 минут, в результате развивается голубой цвет. Развитие цвета останавливается добавлением стоп раствора, и цвет изменяется на желтый и измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Концентрация пролактина прямо пропорциональна интенсивности цвета образца.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотку получают из проб цельной крови, взятых подходящим способом. Набор предназначен для работы с образцами сыворотки без добавок.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Материалы, входящие в состав набора:

1. Планшет с лунками, покрытыми антителами.
2. Набор референтных стандартов, содержащих 0, 5, 20, 50, 100 и 200 нг/мл пролактина человека, в жидкой форме (готовы к использованию) или лиофилизированные.
3. Ферментный конъюгат, 12 мл.
4. ТМБ-субстрат, 12 мл.
5. Стоп-раствор, 12 мл.
6. Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

Материалы, не входящие в состав поставки:

1. Высокоточные пипетки: 40-200 мкл и 1,0 мл.
2. Одноразовые наконечники для пипеток.
3. Дистиллированная вода.
4. Вихревой смеситель или аналог.
5. Промокательная бумага или бумажное полотенце.
6. Бумага для построения графиков.
7. Микротитрационный луночный считыватель.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-22 °C).
2. Если референтные стандарты лиофилизированные, разведите каждый лиофилизированный стандарт 0.5 мл дистиллированной воды. Выдержите разведенный материал 20 минут. Разведенные стандарты должны храниться при 2-8 °C.
3. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) в дистиллированной воде, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок с антителами в рамку для стрипов. Сделайте лист данных с идентификацией образца.
2. Внесите по 50 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте содержимое лунок в течении 10 секунд. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-22 °C) в течение 60 мин.
6. Удалите содержимое лунок.
7. Промойте лунки 5 раз промывочным буфером (1x).
8. Резко ударьте планшет с лунками о промокательную бумагу или бумажные полотенца для удаления всех остатков жидкости.
9. Внесите по 100 мкл раствора ТМБ в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в темном месте в течении 20 мин.
11. Остановите реакцию внесением 100 мкл стоп-раствора в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешивайте на протяжении 5 сек. до смены окраски раствора в желтый цвет.
13. Используя считыватель для планшетов, измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм.

Внимание:

Процедура промывки имеет большое значение. При недостаточно тщательном промывании результаты будут неточными, и уровень поглощения будет завышен.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассчитать средние значения поглощения (A_{450}) для каждого стандарта, контрольных сывороток и образцов. На бумаге для графиков построить калибровочную кривую, откладывая на вертикальной оси (Y) значение поглощения для каждого стандарта против его концентрации в нг/мл на горизонтальной оси (X). С помощью средних значений поглощения для каждого образца по

калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию пролактина в нг/мл.

Пример калибровочной кривой

Результаты получают со считыванием оптической плотности при 450 нм на оси Y по отношению к концентрациям пролактина на оси X. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета концентраций пролактина в образцах.

Пролактин (нг/мл)	Поглощение (450 нм)
0	0,010
5,0	0,121
20,0	0,472
50,0	1,158
100,0	2,022
200,0	3,077

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Для каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные значения уровней пролактина, соответствующие нормальным, на основании популяции пациентов. Основываясь на ограниченном числе образцов крови здоровых взрослых, среднее значение концентрации пролактина в мужчин (к-во=90) и женщин (к-во=120) составляет 6 и 15 нг/мл соответственно. Минимальная определяемая концентрация составила приблизительно 2 нг/мл.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(См. оригинал инструкции).

ХРАНЕНИЕ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Неиспользованные наборы после получения следует хранить при 2-8 °С, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем. Чтобы минимизировать попадание влажного воздуха. Набор анализа может использоваться в течении срока годности (Один год от даты производства). Срок годности указан на этикетке упаковки. Вскрытые наборы остаются стабильными до окончания срока пригодности при хранении согласно инструкции. Подходящим является микропланшетный считыватель с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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