

## ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

### Набір реагентів для кількісного імуноферментного визначення пролактину (Пролактин–БЕСТ)

#### 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «Пролактин–БЕСТ» призначений для кількісного *in vitro* визначення концентрації пролактину у сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу. Набір «Пролактин–БЕСТ» рекомендований для проведення аналізу в дублях 40 невідомих, 6 калібрувальних проб, однієї проби контрольної сироватки й однієї проби для визначення оптичної густини розчину тетраметилбензидину (ТМБ) при використанні всіх стрипів одночасно. У випадку дробового застосування необхідна обов'язкова постановка всіх каліброваних проб для кожного окремого аналізу.

#### 2. СКЛАД НАБОРУ

**Планшет** - полістирольний, з іммобілізованими моноклональними антитілами до пролактину **1 упаковка.**

**Кон'югат** – анти - пролактин - пероксидаза **1 флакон**

**Калібрувальні проби (КП):**

**комплект**

**КП№1-** 1 флакон, 0,5 мл, містить 0 мМО/л пролактину,

**КП№2-** 1 флакон, 0,5 мл, містить 100 мМО/л пролактину

**КП№3-** 1 флакон, 0,5 мл, містить 500 мМО/л пролактину,

**КП№4-** 1 флакон, 0,5 мл, містить 1200 мМО/л пролактину,

**КП№5-** 1 флакон, 0,5 мл, містить 2000 мМО/л пролактину,

**КП№6-** 1 флакон, 0,5 мл, містить 3000 мМО/л пролактину,

**КС (контрольна сироватка)** містить відому кількість пролактину, діапазон концентрацій зазначений на етикетці флакону. **1 флакон**

**Промиваючий розчин** –

**1 флакон**

**ТМБ (Розчин тетраметилбензидина)**

**1 флакон**

**СР (Стоп-реагент)**

**1 флакон**

Перерахунок 1 мМО/л / 21 = нг/мл

#### 3. АНАЛІТИЧНІ Й ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ.

**3.1. Чутливість.** Мінімальна достовірно обумовлена набором концентрація пролактину в сироватці крові людини не перевищує 7 мМО / л.

**3.2. Специфічність.** Не виявлено перехресної реакції обох моноклональних антитіл до пролактину з гормоном росту , плацентарних лактогенного , тиреотропним , фоллікулоstimулюючим і лютеїнізуючим гормонами людини.

**3.3. Діапазон очікуваних значень.** В нормі у дорослих чоловіків 100 – 540 мМО/л, жінок 67 – 727 мМО/л.

#### 4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не пікетувати розчини ротом; всі використані матеріали дезінфікувати відповідно до вимог чинного законодавства.

#### 5. ОБЛАДНАННЯ Й МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ ПРИ РОБОТІ З НАБОРОМ:

Одно- Фотометр вертикального сканування, шейкер – інкубатор, вошер, центрифуга лабораторна на 2,5- 3,0 тис. об / хв., холодильник побутовий, піпетки напівавтоматичні одно каналні і багатоканальні рукавички гумові хірургічні, колба мірна, папір фільтрувальний, вода дистильована.

#### 6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ.

**6.1.** Узяття крові для аналізу слід проводити з використанням стандартних процедур для венозної крові, а зразки сироватки повинні бути звільнені від клітин крові центрифугуванням. Після центрифугування сироватка крові повинна бути перенесена в окрему пробірку.

**6.2.** Слід уникати використання в аналізі плазми крові, гемолізованої, мутної або гіперліпемічної сироватки. Не допускається використання як консервант азиду натрію.

**6.3.** Зразки сироватки крові слід використати протягом 24 годин з моменту отримання за умови їх зберігання при +2...8°C. Для більш тривалого зберігання зразки необхідно заморозити при температурі нижче -20°C. Уникати повторного заморожування зразків.

#### 7. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.

##### 7.1. Підготовка реагентів

7.1.1.Стрипи . Перед розкриттям пакет зі стрипами необхідно витримати при кімнатній температурі ( +18 ... 25 ° С ) не менше 30 хвилин. Розкрити пакет і переставити на вільну рамку необхідну кількість стрипів . Залишок упакувати у фольгований пакет та зберігати до кінця терміну придатності при +2...8°C.

7.1.2 Рідкі калібрувальні проби і контрольна сироватка готові до використання.

Для відновлення ліофілізованих калібрувальних проб та контрольної сироватки перед розкриттям флаконів легким постукуванням струсити частинки, які прилипли до стінок флаконів або до кришок. Відкрити флакони і покласти кришки перевернутими на суху поверхню. У кожний флакон з калібрувальної пробі та контрольної сироваткою внести по 0,5 мл дистильованої води і закрити кришками. Витримати флакони протягом 10 хвилин при кімнатній температурі (+18 ... 25°C) без перемішування. Потім, акуратно нахиливши і обертаючи флакони, перемішати їх вміст до повного розчинення, уникаючи піноутворення. Протягом наступних 10 хвилин витримати флакони при кімнатній температурі, періодично перемішуючи.

7.1.3 . Кон'югат готовий до використання. Витрата кон'югату на один стрип становить 1,15 мл .

7.1.4 . Розчин для промивання . Необхідна кількість промивочного розчину розвести дистильованою водою в 20 разів.

Наприклад: 5 мл промиваючого розчину + 95 мл дистильованої води.

Ретельно перемішати, уникаючи піноутворення .

7.1.5 . Розчин тетраметілбензідіна ( ТМБ ) готовий до використання. Витрата ТМБ на один стрип становить 1,15 мл.

7.1.6 . Стоп - реагент готовий до використання. Витрата стоп- реагенту на один стрип становить 1,15 мл.

7.1.7 . Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути ретельно перемішані і доведені до кімнатної температури.

## 7.2. Постановка аналізу

7.2.1 . Скласти протокол маркування лунок. Лунки промаркувати наступним чином :

A1 , A2 - № 1 - для вимірювання величини оптичної густини розчину ТМБ ;

B1 , B2 - № 2 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 1;

C1 , C2 - № 3 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 2;

D1 , D2 - № 4 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 3;

E1 , E2 - № 5 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 4

F1 , F2 - № 6 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 5

G1 , G2 - № 7 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 6 ;

H1 , H2 - № 8 - для вимірювання величини оптичної густини контрольної сироватки.

7.2.2 . У всі лунки, крім лунок A1 і A2, внести по 100 мкл кон'югату .

7.2.3 . Внести у відповідні лунки по 20 мкл калібрувальних проб та контрольної сироватки, в що залишилися лунки - по 20 мкл досліджуваної сироватки крові в дублікатах .

**Примітка:** загальний час внесення калібрувальних проб, контрольної сироватки і досліджуваних сироваток крові не повинен перевищувати 15 хвилин, інакше час інкубації різних зразків буде значно відрізнятись, що призведе до неправильних результатів .

7.2.4 . . Інкубувати стрипи протягом 20 хвилин при струшуванні в термо шейкері при температурі +37 ° С зі швидкістю 500-800 об / хв .Або 30 хвилин при кімнатній температурі.

7.2.5 . По закінченні інкубації видалити вміст лунок в контейнер з дезінфікуючим розчином ( 1% розчином гіпохлориту натрію або 6% розчином перекису водню) і промити лунки п'ять разів. При кожній промивці в усі лунки додати по 300 мкл розчину для промивання, приготованого за п. 7.1.4 ., Струснути рамку на протягом 5-10 секунд з наступним декантуванням . Після останнього декантування ретельно видалити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі стрипами в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу .

Допускається промивка лунок за допомогою автоматичного промивання пристрою.

7.2.6 . негайно внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ . Інкубувати стрипи в темноті при кімнатній температурі (+18 ... 25°C) протягом 10-15 хвилин в залежності від ступеня розвитку забарвлення або 10 хвилин у термо- шейкері при температурі +37 ° С зі швидкістю 500-800 об / хв .

7.2.7 . Додати в усі лунки з тією ж швидкістю і в тій же послідовності, як і розчин ТМБ, по 100 мкл стоп- реагенту для зупинки ферментної реакції, перемішати на шейкері протягом 1-2 хвилин при кімнатній температурі.

7.2.8 . Якщо неможливо виміряти оптичну густина у лунках планшета безпосередньо після виконання п. 7.2.7 ., То слід мати на увазі, що забарвлення в лунках планшета стабільна не більше 20 хвилин при кімнатній температурі.

**Примітка:** максимальна оптична густина не повинна перевищувати меж лінійного виміру спектрофотометра. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу . Рекомендована максимальна оптична густини не більше 2,5 од. ОГ .

## 8. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виміряти на фотометрі вертикального сканування оптичну густина у лунках при довжині хвилі 450 нм.

При реєстрації результатів необхідно віднімати величину оптичної густини в лунках A1 і A2 з значень оптичної густини всіх інших лунок.

**Примітка:** середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках A1 і A2 не повинно перевищувати 0,09 од.ОГ.

## 9. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

9.1. Побудувати калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації пролактину ( мМО / л ) в калібрувальних пробах (Малюнок). Зовнішній вигляд графіка залежить від способу перетворення вісей .

**Примітка:** для побудови калібрувального графіка на масштабній папері необхідно використовувати дані оптичної густини після вирахування з них середньої величини оптичної густини лунок з ТМБ .

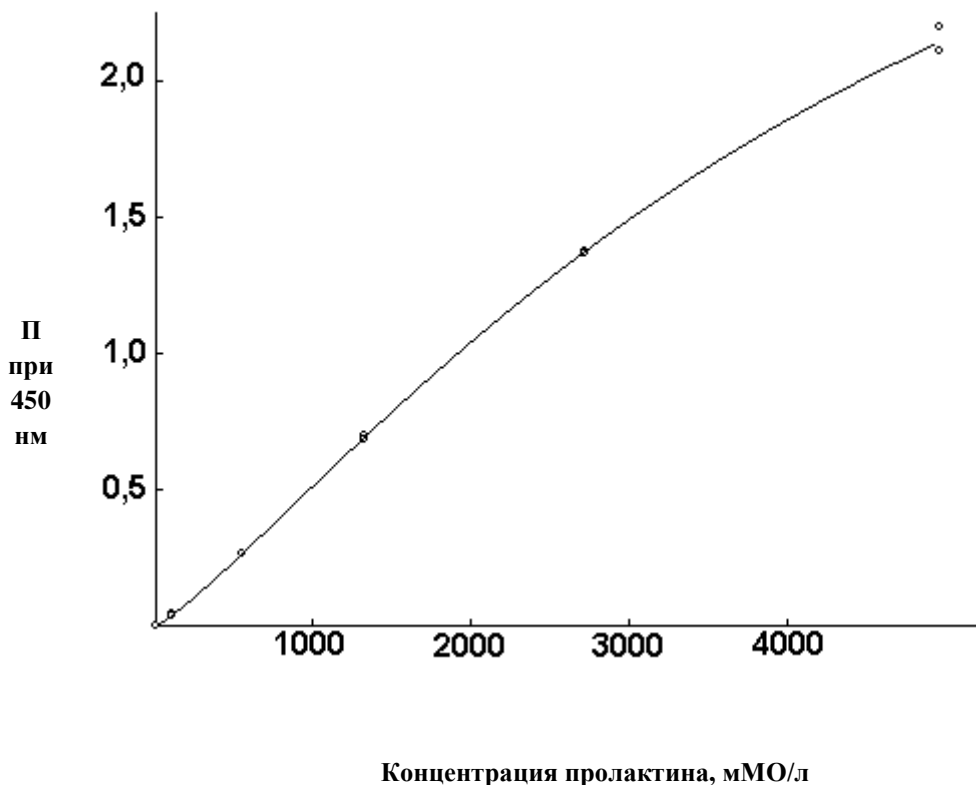
Якщо програма фотометра не дозволяє віднімати величину оптичної густини лунок А1 і А2 , то необхідно користуватися формулою :

$V - VT$  ,

де  $V$  - середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках , що містять калібрувальні або досліджувані проби ,  
 $VT$  - середнє арифметичне значення оптичної густини лунок А1 і А2.

9.2 . Визначити вміст пролактину в пробах за калібрувальним графіком.

9.3 . Екстраполяція калібрувального графіка для значень концентрації пролактину , що перевищують номінал КП № 6 , не допускається. За наявності таких випадків приймати значення концентрації досліджуваного зразка « вище концентрації КП № 6».



Малюнок. Типовий калібрувальний графік

## 10 . УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

Набори зберігати і транспортувати при (2-8)°С. Допускається транспортування при температурі до 25°С не більше 5 діб. Промиваючий розчин підготовлений до використання зберігати не більше 30 діб.

**Не допускати заморожування!**

Термін придатності набору реагентів – 14 місяців з дня випуску.

З питань, що стосуються якості набору, звертатися: в **ТОВ «Бест Діагностик»** за адресою:

04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9, тел./факс: (044) 500-57-11 E-mail: [info@bestdiagnostic.com.ua](mailto:info@bestdiagnostic.com.ua)

Виробник залишає за собою право в разі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції.