

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**  
**пролактину в сироватці крові**  
**Пролактин - ІФА**

**IN VITRO**

Зберігати при 2-10°C

**Принцип методу**

У наданій тест-системі використовується принцип двосайтового імуноферментного аналізу (сендвіч-метод). У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-Пролактин-антитіла) вносять досліджуваний зразок і кон'югат (другі анти-Пролактин-антитіла, мічені пероксидазою). Пролактин із зразка зв'язується з антигеном на поверхні лунки та кон'югатом. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату та вимірюється при довжині хвилі 450 нм.

Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості пролактину у зразку.

**Клінічне значення**

Пролактин – поліпептидний гормон, який синтезується лактотропними клітинами в передній долі гіпофіза, невелика кількість синтезується периферичними тканинами. При вагітності виробляється також у ендометрії. Під час вагітності пролактин підтримує існування жовтого тіла і вироблення прогестерону, стимулює ріст і розвиток молочних залоз і утворення молока. Це один з гормонів, що сприяють формуванню статевої поведінки. Пролактин не впливає безпосередньо на функціональну активність полових залоз, але рівень пролактину корелює зі станом гіпоталамуса та аденогіпофіза. Регулює водно-сольовий обмін, затримуючи виділення води і натрію нирками, стимулює всмоктування кальцію. У цілому пролактин активує анаболічні процеси в організмі. Серед інших ефектів можна відзначити стимуляцію росту волосся. Пролактин чинить також модулюючий вплив на імунну систему. Добова секреція пролактину має пульсуючий характер. Під час сну його рівень зростає. Після пробудження концентрація пролактину різко зменшується, досягаючи мінімуму в пізні ранкові години. Після полудня рівень гормону наростає. У відсутності стресу, добові коливання рівня знаходяться в межах нормальних значень. Під час менструального циклу в лютеїнову фазу рівень пролактину вище, ніж у фолікулінову. З 8-го тижня вагітності рівень пролактину підвищується, досягаючи піку до 20 - 25 тижні, потім знижується безпосередньо перед пологами і знову збільшується в період лактації.

Підвищення рівня пролактину в плазмі характерно для овуляції, вагітності, годування грудьми й стресу. Значне збільшення відбувається при захворюваннях гіпоталамуса, гіпофіза, гіпофункції щитовидної залози, синдромі полікістозних яєчників, хронічній нирковій недостатності, цирозі печінки, недостатності кори надниркових залоз, пухлинах, що продукують естрогени, аутоімунних захворюваннях (системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, аутоімунний тиреоїдит, дифузний токсичний зоб), гіповітаміноз В6; лікування антигістамінними препаратами, антипсихотичними засобами та ін.

Зниження рівня пролактину відбувається при синдромі Шихана, істинному переносуванні вагітності, прийом протисудомних засобів, дофамінергічних засобів, кальцитоніну, кон'югованих естрогенів та 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, нульовий калібратор - 2 мл (всього 5 калібраторів: 0, 100, 200, 1000, 2000 мМОд/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: 10 мМОд/л.

Очікуванні коливання контролю: 200-320 мМОд/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

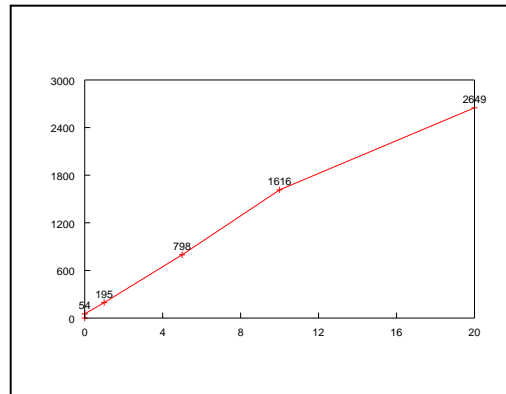
1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
3. Внесіть у лунки 50 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте **20-25** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти нульового калібратора.
10. Використовуйте кусково-лінійний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію пролактину 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 переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

**Приклад калібрувальної кривої** (вісь X – концентрація, мМОд/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.

Стать	Одиниці мМОд/л	
	Нижня межа	Верхня межа
Чоловіки	60	560
Жінки		
Вагітні:		
1-й триместр		2000
2-й триместр		6000
3-й триместр		10000
Фази циклу: фолікулярна	60	600
лютеїнова	120	900
менопауза	40	550

### 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.

E-mail: [granum@granum.com.ua](mailto:granum@granum.com.ua)

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"  
61050, м. Харків  
вул. Юр'ївська, 17  
т/ф (057) 768-07-14

**Паспорт**  
Тест-система для визначення  
пролактину в сироватці крові  
**Пролактин-ІФА**

**IN VITRO**

Серія **710**  
Дата виготовлення **17.01.2013**  
Термін придатності **17.07.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
<b>1. Показники правильності визначення</b>				
1.1	Чутливість не менш, мМОд/л	10		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, мМОд/л	200-320		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
<b>2. Зовнішній вигляд, комплектація</b>				
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 5 калібраторів: 0, 100, 200, 1000, 2000 мМОд/л; 1 контроль)	червоний	1 фл. x 2 мл 5 фл. x 0.5 мл	відповідає
2.4	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. x 22 мл	відповідає
2.5	Кон'югат	червоний	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