



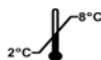
**IMMUNOASSAYS AND SERVICES**

BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY

LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co.KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

## Інструкція з використання Прогестерон ІФА

**REF** FR E-2500



**IVD**



Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@novamedline.com, www.novamedline.com

## **ВСТУП**

Набір імуноферментного аналізу прогестерону містить матеріали для кількісного визначення прогестерону у сироватці та плазмі. Цей аналіз призначений тільки для діагностики *in vitro*. Прогестерон (pregn-4-ен-3, 20-діон) являє собою C21 стероїдний гормон, що містить кетогрупу (у C-3) і подвійний зв'язок між C-4 і C-5 ( $\Delta 4$ ).

Цей стероїдний гормон - це жіночий статевий гормон, який, у поєднанні з естрогенами, регулює додаткові органи протягом менструального циклу, і це особливо важливо при підготовці ендометрію до імплантації бластоцитів і підтримки вагітності.

У невагітних жінок прогестерон в основному виділяється жовтим тілом, тоді як під час вагітності плацента стає основним джерелом.

Малими джерелами є кора наднирників для обох статей та яєчки для чоловіків.

Прогестерон циркулює у крові, переважно пов'язаний з кортикостероїдом зв'язаним глобуліном (CBG), глобуліном, що зв'язує статеві гормони (SHBG), і альбуміном. Тільки 2-10% загальної концентрації циркулює як вільний гормон.

Концентрації прогестерону в крові різняться залежно від фаз менструального циклу; вони нижче, ніж 1 нг / мл (3,2 нмоль / л) у фолікулярній фазі і приблизно 10-20 нг / мл (32-64 нмоль / л) в лютеїновій фазі. Максимальні рівні досягаються через 4-7 днів після овуляції та залишаються підвищеними протягом 4-6 додаткових днів до падіння до рівня передовуляторного за 24 години до настання менструації.

Оскільки підйом і падіння прогестерону паралельні активності фолікули яєчників і жовтого тіла, вимірювання прогестерону плазми клінічно використовуються для підтвердження овуляції та нормальної функції жовтого тіла в невагітних жінок.

Якщо овуляція не відбувається, жовте тіло не утворюється і циклічне підвищення прогестерону в плазмі не спостерігається. Аномальна секреція прогестерону пов'язана з передменструальним напруженням, нерегулярним виділенням ендометрію, дисменореєю та лютеальною недостатністю.

Концентрація прогестерону може відрізнитися не тільки від суб'єкта до суб'єкта, але і в однієї особи від дня до дня або навіть від години до години. Отже, при гінекологічних розладах або аномальній вагітності серійні вимірювання, а не одиничні, рекомендуються для правильної інтерпретації результатів.

Протягом вагітності прогестерон широко виробляється плацентою, а рівні плазми стабільно досягають значень 200 нг / мл на термін.

## **ПРИНЦИП АНАЛІЗУ**

Набір ІФА для прогестерону - це твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА), який базується на принципі конкурентного зв'язування.

Лунки мікропланшета покриті поліклональним антитілом, спрямованим до антигенного сайту на молекулі прогестерону. Ендогенний прогестерон зразка пацієнта конкурує з прогестероном кон'югата пероксидази хрому для зв'язування з антитілом з покриттям. Після інкубації незв'язаний кон'югат змивається.

Кількість кон'югату зв'язаного пероксидазою обернено пропорційна концентрації прогестерону в зразку. Після додавання розчину субстрату інтенсивність кольору, що розвивається, обернено пропорційна концентрації прогестерону в зразку хворого.

## **ПОПЕРЕДЖЕННЯ**

- Цей комплект призначений лише для діагностики *in vitro*.
- Для отримання інформації про небезпечні речовини, включені в набір, зверніться до Посібника з безпеки матеріалів.
- Всі реактиви цього тест-набору, які містять людську сироватку або плазму, були протестовані та підтверджені негативними для ВІЛ-інфекції I / II, HBsAg та HCV за схваленими процедурами FDA. Проте всі реагенти слід розглядати як потенційно біологічно небезпечні у використанні та утилізації.
- Уникати контакту з стоп розчином, що містить 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Це може спричинити подразнення шкіри та опіки.
- Ніколи не піпетуйте ротовою порожниною та уникайте контакту реагентів та зразків зі шкірою та слизовими мембранами.
- Не курить, не їжте, не пийте та не наносить косметику в місцях, де обробляються зразки чи комплектуєчі

реаكتиви.

- Під час обробки зразків та реагентів одягайте одноразові латексні рукавички. Мікробне забруднення реагентів або зразків може давати хибні результати.
- обертання повинно відповідати процедурам, визначеним відповідним національним законодавством щодо біологічної небезпеки, керівництвом або нормативними актами.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, як показано на етикетках наборів.
- Всі вказані обсяги повинні бути виконані відповідно до протоколу. Оптимальні результати тесту отримуються тільки при використанні каліброваних піпеток та рідерів мікропланшетів.
- Не змішуйте та не використовуйте компоненти з наборів з різними номерами партій. Рекомендується не обмінювати лунки різних мікропланшетів навіть однієї партії. Набори могли бути відправлені або зберігатися в різних умовах і характеристики зв'язування пластин можуть стати дещо різними.
- Хімікати та підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національних директив про біологічну небезпеку або регулювання.
- Паспорти Безпеки для даного продукту доступні за запитом безпосередньо від виробника.
- Паспорти Безпеки відповідають вимогам: EU-Guideline 91/155 EC.

## КОМПОНЕНТИ НАБОРУ

### Зміст набору

#### FR E-2531 мікропланшет

12x8 (розбірних) стріпів, 96 лунок; лунки, покриті анти - прогестерон антитілом (поліклональним)

#### Стандарти

готові до використання

	Каталожний номер	стандарт	концентрація	Обсяг/флакон
Стандарт А	FR E 2501	Стандарт А (0)	0 нг/мл	1 мл
Стандарт В	FR E 2502	Стандарт В (1)	0,3 нг/мл	1 мл
Стандарт С	FR E 2503	Стандарт С (2)	1,25 нг/мл	1 мл
Стандарт D	FR E 2504	Стандарт D (3)	2,5 нг/мл	1 мл
Стандарт E	FR E 2505	Стандарт E (4)	5 нг/мл	1 мл
Стандарт F	FR E 2506	Стандарт F (5)	15 нг/мл	1 мл
Стандарт G	FR E 2507	Стандарт G (6)	40 нг/мл	1 мл

Перетворення: 1 нг / мл = 3,18 нмоль / л

містять 0,03% Proclin 300 + 0,005% гентаміцину сульфату як консервант.

#### Conjugate FR E-2540 ферментний кон'югат

1 флакон, 25 мл, готовий до використання; Прогестерон, кон'югований з хроном пероксидази;

\* містять 0,03% Proclin 300, 0,015% BND і 0,010% MIT як консервант.

#### Substrate SA E-0055 розчин субстрату

1 флакон, 25 мл, готовий до використання; ТМБ

#### Stop Soln FR E-0080 стоп розчин

1 флакон, 14 мл, готовий до використання; містить 0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Уникати контакту з стоп розчином. Це може викликати подразнення шкіри та опіки.

#### Wash conc 40 x FR E-0030 Розчин для промивки

1 флакон, 30 мл (40X концентрований); див. "Підготовка реагентів".

\* BND = 5-бром-5-нітро-1,3-діоксан

MIT = 2-метил-2Н-ізотіазол-3-он

**Примітка:** додатковий стандарт А для зразків доступний за запитом.

### **Обладнання та матеріали необхідні, але не передбачені**

- калібрований рідер мікропланшетів (450 ± 10 нм)
- Калібровані мікропіпетки із змінною точністю.
- абсорбуючий папір.
- дистильована вода

### **Зберігання та стабільність набору**

При зберіганні при 2-8 ° С нерозкриті реагенти будуть зберігати реактивність до закінчення терміну придатності. Не використовуйте реагенти поза цією датою.

Відкриті реагенти необхідно зберігати при 2-8 ° С. Лунка мікропланшету повинна зберігатись при 2-8 ° С. Як тільки пакет з фольги був відкритий, потрібно подбати про те, щоб закрити його щільно знову.

Відкриті набори зберігають активність протягом двох місяців, якщо вони зберігаються, як описано вище.

### **Підготовка реагентів**

Перед використанням всі реагенти та необхідна кількість стріпів повинна досягти кімнатної температури.

### **Промивний розчин**

Додайте дейонізовану воду до концентрованого промивного розчину 40X.

Розбавте 30 мл концентрованого промивного розчину з 1170 мл дейонізованої води до кінцевого об'єму 1200 мл.

*Розведений розчин для миття стабільний протягом 2 тижнів при кімнатній температурі.*

### **Утилізація набору**

Утилізація набору повинна бути зроблена відповідно до національних офіційних правил. Спеціальна інформація для цього продукту наведена в Паспортах з безпеки матеріалів (див. розділ 13).

### **Пошкоджені тестові набори**

У разі будь-якого серйозного пошкодження випробувального набору чи компонентів, виробник повинен бути проінформований письмово, не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Сильно пошкоджені окремі компоненти не повинні використовуватися для тестування.

Вони повинні зберігатися до моменту прийняття остаточного рішення. Після цього їх слід утилізувати відповідно до офіційних правил.

### **ЗРАЗКИ**

У цьому дослідженні можна використовувати сироватку або плазму (ЕДТА-, гепарин- або цитратну плазму).

Не використовуйте гемолітичні, жовтяничні або ліпемічні зразки.

Зверніть увагу: проби, що містять азид натрію, не повинні використовуватися в аналізі.

### **Збір зразків**

#### **Сироватка:**

Зібрати кров за допомогою венепункції (наприклад, Sarstedt Monovette # 02.1388.001), дозволити згорнутися і відокремити сироватку шляхом центрифугування при кімнатній температурі. Не робіть центрифугування, перш ніж повне згортання не відбулося. Пацієнти, які отримують антикоагулянтну терапію, можуть вимагати збільшення часу згортання крові.

#### **Плазма:**

Цільну кров слід збирати в центрифужні пробірки, що містять антикоагулянти, та негайно центрифугувати після збору.

(Наприклад, для плазми ЕДТА Sarstedt Monovette – червоний ковпачок - # 02.166.001; для плазми гепарину Sarstedt Monovette - оранжевий ковпачок - # 02.165.001; для цитратної плазми Sarstedt Monovette – зелений ковпачок - # 02.167.001.)

### **Зберігання зразків**

Зразки повинні бути закриті та можуть зберігатися протягом 24 годин при 2-8 ° С перед аналізом.

Зразки, утримувані протягом більш тривалого часу, повинні бути заморожені лише один раз при -20 ° С перед аналізом. Розморожені зразки повинні бути кілька разів перевернуті перед тестуванням.

## **Розведення зразків**

Якщо в ході початкового аналізу виявлено, що зразок містить більше, ніж найвищий стандарт, зразки можуть бути розбавлені в 10 разів або 100 разів зі стандартом А і повторно проаналізовані, як описано в процедурі аналізу.

Для розрахунку концентрацій слід враховувати цей коефіцієнт розведення.

Приклад:

а) розведення 1:10: 10 мкл сироватки + 90 мкл стандарт А (ретельно перемішати)

б) розведення 1: 100: 10 мкл розведення а) 1:10 + 90 мкл стандарту А (ретельно перемішати).

## **ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ**

### **Загальні зауваження**

- Перед використанням всі реагенти та зразки повинні бути доведені до кімнатної температури. Всі реактиви повинні бути змішані без спінювання

- Після початку випробування всі етапи повинні бути завершені без перерви.

- Щоб уникнути перехресного забруднення, використовуйте нові одноразові наконечники для піпетки для кожного стандарту, контролю або зразка

- Абсорбція є функцією часу і температури інкубації. Перед початком аналізу рекомендується, щоб усі реагенти були готові, зняті ковпачки, всі необхідні лунки закріплені утримувачем тощо. Це забезпечить рівний проміжок часу для кожного етапу піпетування без перерви.

- Зазвичай ферментативна реакція лінійно пропорційна часу і температурі

### **Процедура аналізу**

Кожен прогон повинен містити стандартну криву.

1. Закріпіть необхідну кількість лунок мікропланшетів в тримачу.

2. Розподіліть 25 мкл кожного стандарту, контролю та зразку новими одноразовими наконечниками у відповідні лунки.

3. Інкубуйте протягом 5 хвилин при кімнатній температурі.

4. Розподіліть 200 мкл ферментного кон'югату в кожен лунку.

Ретельно змішайте протягом 10 секунд. Важливо мати повне змішування на цьому етапі.

5. Інкубуйте протягом 60 хвилин при кімнатній температурі.

6. Швидко струсити вміст лунок. Промити лунки 3 рази розведеним розчином для промивки (400 мкл на лунку). Постукати лунками різко об абсорбуючий папір для видалення залишкових крапель.

### **Важлива примітка:**

Чутливість та точність цього аналізу помітно впливає на правильність виконання процедури прання!

7. До кожної лунки додайте 200 мкл розчину субстрату.

8. Інкубувати 15 хвилин при кімнатній температурі.

9. Зупиніть ферментативну реакцію, додаючи 100 мкл стоп-розчину до кожної лунки.

10. Визначте абсорбцію (ОГ) кожної лунки  $450 \pm 10$  нм за допомогою рідера мікропланшетів. Рекомендовано зчитати лунки протягом 10 хвилин після додавання стоп розчину.

### **Розрахунок результатів**

1. Обчислити середні значення абсорбції для кожного набору стандартів, контролів та зразків.

2. Побудуйте стандартну криву шляхом нанесення отриманої середньої абсорбції від кожного стандарту навпроти його концентрації з величиною абсорбції по вертикалі (Y) і концентрації на горизонтальній (X) вісі.

3. Використовуючи середні значення абсорбції для кожного зразка та контролю, визначте відповідну концентрацію зі стандартної кривої.

4. Автоматизований метод: результати були розраховані автоматично за допомогою 4 PL (4 параметри логістики) кривої відповідності. 4 Параметр Логістика є найкращим методом розрахунку. Інші функції обробки даних можуть дати дещо інші результати.

5. Концентрацію зразків можна визначити безпосередньо з цієї стандартної кривої. Зразки з концентрацією, вище, ніж у найвищому стандарті, повинні ще більше розбавлятися. Для розрахунку концентрації, цей коефіцієнт розведення повинен бути врахований.

### Приклад типовій стандартної кривої

Наведені дані призначені лише для ілюстрації та не повинні використовуватися для обчислення результатів з іншого прогону.

Стандарт	Оптичні одиниці (450 нм)
Стандарт А (0 нг/мл)	1,52
Стандарт В (0,3 нг/мл)	1,17
Стандарт С (1,25 нг/мл)	0,88
Стандарт D (2,5 нг/мл)	0,69
Стандарт Е (5,0 нг/мл)	0,55
Стандарт F(15,0 нг/мл)	0,35
Стандарт G (40,0 нг/мл)	0.13

### ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія визначала власні нормальні та ненормальні значення. У дослідженні, проведеному з очевидно здоровими дорослими, за допомогою ІФА прогестерон наступні значення спостерігаються:

#### Нормальні жінки

Фолікулярна фаза: 0,2 - 1,4 нг / мл

Лютеїнова фаза: 4 - 25 нг / мл

Менопауза: 0,1 - 1 нг / мл

**Нормальні чоловіки** 0,1 - 1 нг / мл

### КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Хороша лабораторна практика вимагає, щоб контроль проводився з кожною стандартною кривою.

Статистично значима кількість контролів повинна бути перевірена для встановлення середніх значень та прийнятних діапазонів для забезпечення належної продуктивності. Рекомендується використовувати контрольні зразки відповідно до державних та федеральних правил. Використання контрольних зразків рекомендується для забезпечення повсякденної дійсності результатів. Використовуйте контролі як нормальних, так і з патологічних рівнів.

Контроль та відповідні результати КЯ - лабораторії вказані в сертифікаті КЯ, доданому до набору. Значення та діапазони, зазначені на листі КЯ, завжди відносяться до поточної партії наборів і повинні використовуватися для прямого порівняння результатів.

Також рекомендується скористатись національними чи міжнародними програмами оцінки якості для того, щоб забезпечити точність результатів.

Використовуйте відповідні статистичні методи для аналізу контрольних значень та тенденцій. Якщо результати аналізу виконаного не підходять до встановлених прийнятних діапазонів контрольних матеріалів, результати пацієнта повинні вважатися недійсними.

У цьому випадку, будь-ласка, перевірте наступні технічні напрями: пристрої піпетування та синхронізації; фотометр, термін придатності реагентів, умови зберігання та інкубації, методи аспірації та промивки.

Після перевірки вищезазначених елементів, не знайшовши помилки, зв'яжіться з вашим дистриб'ютором або виробником безпосередньо.

## ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ АНАЛІЗУ

### Динамічний діапазон аналізу

Діапазон аналізу становить від 0 до 40 нг / мл.

### Специфічність антитіл (перехресна-реактивність)

Наступні речовини були перевірені на перехресну реактивність аналізу:

стероїд	Перехресна реактивність (%)
Прогестерон	100,00
17α ОН прогестерон	0,30
Естріол	< 0.10
Естрадіол 17 β	< 0.10
тестостерон	< 0.10
11-дезоксикорикостерон	1,10
DHEA-S	< 0.02
кортизол	< 0.02
кортикостерон	0,20
прегнегон	0,35
Кортизон	< 0.10

### Аналітична чутливість

Аналітична чутливість була розрахована з середнього мінус двох стандартних відхилень двадцяти (20) повторів аналізу Стандарту А, і було встановлено, що це 0,045 нг / мл.

### Точність

#### Мінливість в аналізі

Мінливість в аналізі показано нижче:

зразок	кількість	Середнє (нг/мл)	CV (%)
1	20	0,62	5,4
2	20	4,67	6,99
3	20	10,80	6,86

#### Мінливість між аналізами

зразок	кількість	Середнє (нг/мл)	CV (%)
1	12	0,56	9,96
2	12	4,55	4,34
3	12	10,65	5,59

## Відновлення

Зразки були збагачені шляхом додавання розчинів Прогестерону з відомими концентраціями у співвідношенні 1: 1.

Очікувані значення були розраховані шляхом додавання половини значень, визначених для нерозбавлених зразків та половини значень відомих розчинів. % Відновлення було розраховано шляхом множення співвідношення вимірювання та очікуваних значень з 100.

зразок	Додані концентрації 1:1 (нг/мл)	Виміряні концентрації (нг/мл)	Очікувані концентрації (нг/мл)	Відновлення (%)
1	40,0	1,63	20,82	97,8
	15,0	20,35	8,32	101,6
	5,0	8,45	3,32	106,2
	2,5	3,52	2,07	112,0
2	40,0	4,17	22,09	102,7
	15,0	22,69	9,59	109,0
	5,0	10,45	4,59	96,3
	2,5	4,42	3,34	108,3
3	40,0	11,03	25,52	105,6
	15,0	26,94	13,02	95,6
	5,0	12,44	8,02	96,1
	2,5	7,70	6,77	90,9

## Лінійність

зразок	розведення	Вимірювана концентрація (нг/мл)	Очікувана концентрація (нг/мл)	Відновлення (%)
1	Немає	1,63	1,63	
	1:2	0,75	0,82	92,0
	1:4	0,46	0,41	111,9
	1:8	0,20	0,20	99,1
	1:16	0,11	0,10	107,0
2	Немає	4,17	4,17	
	1:2	2,30	2,09	110,3
	1:4	1,09	1,04	104,8
	1:8	0,49	0,52	93,3
	1:16	0,23	0,26	87,8
3	Немає	11,03	11,03	
	1:2	5,81	5,52	105,4
	1:4	2,96	2,76	107,2
	1:8	1,50	1,38	108,6
	1:16	0,72	0,69	104,7

## 9. Обмеження процедури

### Впливаючі речовини

Будь-яке неправильне поводження із зразками або модифікація цього випробування може вплинути на результати.

Гемоглобін (до 4 мг / мл), білірубін (до 0,5 мг / мл) і тригліцерид (до 1,8 мг / мл) не мають вплив на результати аналізу



## **Вплив ліків**

До цих пір ніяких речовин (лікарських засобів) нам не відомо, які впливають на вимірювання прогестерону у зразку.

## **Ефект високої дози-гак ефект**

У цьому тесті не було виявлено ефекту гака.

## **10. Правові аспекти**

### **10.1 Надійність результатів**

Тест повинен бути виконаний точно відповідно до інструкцій виробника для використання. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватись правил GLP (належної лабораторної практики) або інших застосованих національних стандартів та / або законів. Це особливо актуально для використання контролів реагентів. Важливо завжди включати в процедуру аналізу достатню кількість контролів для перевірки точності випробування.

Результати тестування дійсні, лише якщо всі контролі знаходяться в межах зазначеного діапазону та якщо всі інші параметри тесту є також в рамках зазначених специфікацій аналізу. У разі будь-якого сумніву або стурбованості звертайтеся до виробника.

### **10.2 Терапевтичні наслідки**

Терапевтичні наслідки ніколи не повинні ґрунтуватися тільки на лабораторних результатах, навіть якщо всі результати тестів є в угоді з пунктами, зазначеними в пункті "Надійність результатів". Будь-який лабораторний результат є лише частиною загальної клінічної картини пацієнта.

Тільки в тих випадках, коли лабораторні результати є прийнятні з урахуванням загальної клінічної картини, пацієнт повинен отримати терапевтичні наслідки.

Сам результат тестування ніколи не повинен бути єдиним детермінантом для виявлення будь-яких терапевтичних наслідків.

### **10.3 Відповідальність**

Будь-яка модифікація тестового комплекту та / або обмін або суміш будь-яких компонентів різних лотів з одного випробувального набору до іншого може негативно вплинути на передбачувані результати та обґрунтованість загального тесту. Така модифікація та / або обмін недійсними для будь-яких претензій на заміну.

Претензії, подані через неправильне розуміння клієнтом результатів лабораторних досліджень за пунктом «Терапевтичні Наслідки "(10.2) також недійсні. Незважаючи на це, у випадку будь-якої претензії відповідальність виробника не перевищує значення вартості тестового комплекту. Будь-який збиток, нанесений випробувальному комплекту під час перевезення, не підлягає відповідальності виробника.

## 11. ЛІТЕРАТУРА

1. Filicori M, Butler JP, Crowley WF Jr. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. J Clin Invest. 73:1638 1984.
2. Katt JA, Duncan JA, Herbon L, et al. The frequency of gonadotropin releasing hormone stimulation determines the number of pituitary gonadotropin releasing hormone receptors. Endocrinology 1985; 116:2113.
3. Csapo AI, Pulkkinen MO, Wiest WG: Effects of lutectomy and progesterone replacement therapy in early pregnancy patients. Am J Obstet Gynecol 115:759, 1973.
4. Thomas Labor und Diagnose

## УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо для <N> випробувань
 Дата закінчення терміну придатності	<b>LOT</b> Код партії	<b>IVD</b> Тільки для ін вітро діагностики в лабораторних умовах!
 Звертайтеся до інструкції по експлуатації	<b>CONT</b> зміст	<b>CE</b> CE Маркування
 <b>УВАГА ! ОБЕРЕЖНО !</b>	<b>REF</b> каталожний номер	<b>RUO</b> тільки для дослідницького використання !