

**PROLACTIN
ПРОЛАКТИН**
**ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО
ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА ПРОЛАКТИН В СЕРУМ.**
ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Концентрацията на пролактин е право пропорционална на наситеността на получения при реакцията цвят на пробата. Абсорбцията се измерва спектрофотометрично при 450 nm.

РЕАГЕНТИ

1. Antibody coated microtiter plate, 96 wells
2. Prolactin Reference Standards: 0, 5, 15, 50, 100, 200 ng/ml лиофилизирани
3. Enzyme Conjugate Reagent, 13 ml
4. TMB Reagent, 11 ml
5. Stop Solution (1N HCl), 11 ml.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Внимание: Този тест съдържа човешки материал. Източникът на този материал е тестван отрицателен за HbsAg, HIV1/2 и HCV, но никой наличен метод не може да гарантира напълно отсъствието им. Следователно третирайте всички кръвни продукти и проби като потенциално заразни. Спазвайте националните разпоредби за работа с биологично опасни материали.
2. Не използвайте реактивите след изтичане на срока на годност и не смесвайте компоненти от кутии с различен партиден номер.
3. Не използвайте реактива, ако е станал замърсен и мътен.
4. Не използвайте ереактива, ако шишенцето е пукнато или повредено.
5. Веднага поставйте капачките и не разменяйте капачките на различни шишенца.
6. Всяка ямка може да се използва само веднъж.
7. Не пипетирайте с уста.
8. Разтвори съдържащи добавки или консерванти, например натриев азид не трябва да се използват при ензимни реакции.
9. Избягвайте контакт с 1N HCl – може да причини дразнене или изгаряне на кожата. В случай на контакт измийте обилно с вода и потърсете лекарска помощ, ако дразненето продължи.
10. Само за ин витро диагностична употреба.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА ТЕСТА

Неотворените тестове трябва да се съхраняват при 2-8°C в затворената си опаковка с торбички поглъщащи влагата, за да се сведе до минимум излагането на влажен въздух. Отворените тестове остават стабилни до изтичане на срока на годност, ако се съхраняват както е описано по-горе. Тестовите могат да се използват на апарат с ширина на честотната лента 10 nm или по-малка, оптична плътност 0-2 OD или повече при 450 nm дължина на вълната. **СЪБИРАНЕ И**

СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Трябва да се използва серум, приготвен от пълна кръв, посредством стандартните лабораторни процедури. Тестът може да се използва само със серум, в който няма добавки. Пробите могат да се съхраняват при 2-8°C до 48 часа. За по-дълги периоди на съхранение трябва да се замразят до -20°C. След размразяване обърнете нагоре-надолу няколко пъти.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

1. Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура преди употреба.
2. Завъртете леко шишенцата за да се размесят. Не предизвиквайте разпенване.
3. Разтворете всеки лиофилизиран стандарт с 1.0 ml дестилирана вода. Изчакайте поне 20 минути след разтваряне на материала. Разбъркайте леко. Разтворените стандарти трябва да се съхраняват при 2-8°C и са стабилни до 30 дни.

БЕЛЕЖКИ ПО ПРОЦЕДУРАТА

1. Мануално пипетиране: Препоръчва се да не изследвате едновременно повече от 32 ямки. Пипетирането на всички стандарти, проби и контроли трябва да се извърши в рамките на 3 минути.
2. Автоматично пипетиране: Може да се пусне цяла плака с 96 ямки наведнъж. Но се препоръчва пипетирането на всички стандарти, проби и контроли да се извърши в рамките на 3 минути.
3. Всички стандарти, проби и контроли, които се пускат в дублиращо измерване трябва да се пускат едновременно, за да са поставени при еднакви условия.
4. Препоръчва се всички ямки да бъдат отчетени до 15 минути след досбяването на Stop Solution.

ПРОЦЕДУРА

1. Поставете желаните брой ямки в носача.
2. Пипетирайте 50 µl от стандартите, пробите и контролите в съответните ямки.
3. Пипетирайте 100 µl от Enzyme Conjugate Reagent във всяка ямка.
4. Разбъркайте добре в продължение на 30 секунди. Доброто размесване е особено важно в тази начална фаза.
5. Инкубирайте при стайна температура (18-25 °C) 45 минути.
6. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с ямките в мивката.
7. Измийте ямките с дейонизирана или дестилирана вода (не използвайте чешмяна вода) 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате ямките.
8. Изступайте рязко ямките върху попираща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
9. Пипетирайте 100 µl TMB реагент във всяка ямка. Леко разбъркайте 5 секунди.
10. Инкубирайте при стайна температура **на тъмно** 20 минути.
11. Спрете реакцията като добавите 100 µl Stop Solution (1N HCl) във всяка ямка.
12. Леко разбъркайте 30 секунди. *Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.*
13. Отчетете абсорбцията при 450 nm с ELISA апарат до 15 минути.

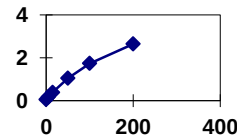
ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средната абсорбция (A_{450}) за всеки комплект стандарти, контроли и проби на пациенти.
2. Конструирайте стандартна крива въз основа на абсорбцията и концентрацията на всеки референтен стандарт.
3. Използвайте средната стойност на абсорбцията за всяка проба, за да определите съответната концентрация на пролактин в ng/ml от стандартната крива.
4. Стойностите, получени от разреждени проби трябва да се конвертират като се умножат по съответния фактор на разреждане.

ПРИМЕР ЗА СТАНДАРТНА КРИВА

Дадената като пример стандартна крива може да служи само като илюстрация и не трябва да се използва при изчисление на неизвестни проби. Всяка лаборатория трябва да получи свои собствени данни и стандартна крива.

пролактин (ng/ml)	Абсорбция (450nm)
0	0.052
5	0.166
15	0.383
50	1.047
100	1.737
200	2.644


ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА

Всяка лаборатория трябва да установи свой собствен диапазон от очаквани стойности. Дадените тук очаквани стойности могат да служат само като ориентир.

Възрасти	ng/ml
Мъже	3.0 - 14.7
Жени	3.8 - 23.2
Бременни в трети триместър	95-473

Минималната концентрация, която този тест може да открие, е 2 ng/ml.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

1. Надеждни и възпроизводими резултати ще се получат ако описаната процедура е напълно разбрана и правилно изпълнена.
2. Процедурата с миенето е от критично значение. Недостатъчно доброто измиване ще повлияе на точността и ще доведе до фалшиво високи стойности на абсорбцията.
3. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
4. Резултатите от теста трябва да се използват само като една съставна част от диагностичната процедура, при която лекарят трябва да вземе пред вид цялата налична информация.
5. Бременност, терапия с естроген, бъбречни заболявания и хипотироидизъм могат да повлияят на нивата на пролактин

REV: 012610

Производител: BioCheck Inc., 323 Vintage Park Drive, Foster City, CA94404, USA
Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1