

Прогестерон в слині ІФА

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення прогестерону
в слині людини

REF RE52281



2-8°C

EU:



I B L I N T E R N A T I O N A L G M B H

Flughafenstrasse 52a
D-22335 Гамбург, Німеччина

Телефон: +49 (0)40-53 28 91-0
Факс: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@IBL-International.com
www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1,
тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

1 ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ Імуноферментний аналіз для кількісного визначення прогестерону в людській слині.

2 ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ І ПОЯСНЕННЯ

Прогестерон - C21-стероїд - жіночий статевий гормон і попередник метаболізму інших стероїдів.

Прогестерон синтезується переважно в жовтому тілі яєчників, під час основної частини вагітності в плаценті і в дуже малих кількостях для вироблення інших стероїдів в корі надниркових залоз та в яєчках. В останніх місцях прогестерон важливий для синтезу альдостерону, кортизолу, тестостерону і 17- β -естрадіолу.

У циркуляції основна частина прогестерону пов'язана з кортикоїдним зв'язуючим глобуліном (CBG, Transcortin), з глобуліном, що зв'язує статевий гормон (SHBG), і з альбуміном. 1 - 2% прогестерону циркулює як вільний гормон у плазмі. Тільки ця порція є активною частиною в ендокринній регуляції. Вільний гормон виділяється в рівній кількості в слині. Ферментативна метаболізація порцій цього гормону в слинних залозах передбачається.

Прогестерон - один з важливих гормонів ендокринної регуляції менструального циклу. Після овуляції прогестерон секретується жовтим тілом, яке розвивається з овульованого фолікула в яєчниках. Рівень прогестерону підвищується на 6 - 8-й день після овуляції до плато. Разом з естрадіолом він інгібує вивільнення ЛГ та ФСГ у гіпофізі за допомогою механізму негативного зворотного зв'язку. Прогестерон секретується в циркуляцію пульсуючим способом. Через лізис жовтого тіла рівень прогестерону знижується в останні 3 дні циклу до рівня до овуляції.

Під час вагітності, починаючи з 8-го гестаційного тижня, плацента стає основним джерелом виробництва прогестерону протягом II та III триместру.

Хід рівня прогестерону в циркуляції відображається на його концентрації в слині.

Найважливішим завданням прогестерону є підготовка статевих органів жінки до потенціальної імплантації та підтримки вагітності. Основні ефекти прогестерону - введення секреторної фази ендометрію, щоб придушити скорочення матки і стимулювати ріст тканини молочної залози, а також інші впливи на обмін речовин та ендокринну систему у жінок.

Що стосується фізіології, то вимірювання прогестерону в слині корисно для моніторингу менструального циклу у жінок, щоб визначити час овуляції та оцінити функцію жовтого тіла, що стає важливим на ранніх термінах вагітності. Тому що коливання рівня прогестерону залежить також від окремих ситуацій, дуже зручно отримувати гормональний профіль багаторазовим збиранням проб слини.

3 ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА) заснований на принципі конкуренції. Невідома кількість антигену, присутнього у зразку, і фіксована кількість антигену, міченого ферментом, конкурують за сайти зв'язування антитіл, нанесених на лунки. Після інкубації лунки промивають для зупинки реакції конкуренції. Після реакції субстрату інтенсивність розвиненого кольору обернено пропорційна кількості антигену в зразку. Результати зразків можна визначити безпосередньо, використовуючи стандартну криву.

4 ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

1. Тільки для in vitro діагностики. Тільки для професійного використання.
2. Перш ніж розпочати аналіз, повністю та уважно прочитайте інструкцію. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладену в упаковку, що постачається в наборі. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
3. У разі серйозного пошкодження комплекту, будь-ласка, зверніться до IBL або у вашого постачальника у письмовій формі не пізніше, ніж через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти в тестових пробігах, але зберігайте їх для вирішення проблеми, пов'язаної зі скаргою.
4. Дотримуйтесь номеру партії та терміну придатності. Не змішуйте реагенти різних партій. Не використовуйте реагенти, що втратили чинність.
5. Дотримуйтесь належної лабораторної практики та рекомендацій з безпеки. Носіть лабораторний одяг,

одноразові рукавички з латексу та захисні окуляри, де це необхідно.

6. Реагенти цього набору, що містять небезпечні речовини, можуть викликати подразнення очей та шкіри. Дивіться МАТЕРІАЛИ НАДАНІ та етикетки для деталей. Дані щодо безпеки матеріалів для цього продукту доступні на сторінці IBL Home або на запит безпосередньо від IBL.

7. Хімічні речовини та підготовлені або використані реагенти повинні поводитися з небезпечними відходами відповідно до національних вказівок чи правил щодо біологічної безпеки та техніки безпеки.

8. Персонал з прибирання повинен керуватися професіональними керівництвами щодо можливих небезпек та поводження.

9. Деякі реагенти містять ProClin 300 як консервант. У разі контакту з очима або шкірою промийте негайно з водою. Утилізуючи реактиви, змийте великим об'ємом води, щоб уникнути накопичення.

5. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір поставляється при температурі навколишнього середовища і його слід зберігати при температурі 2-8 ° C. Тримайте подалі від тепла чи прямого сонячного світла. Зберігання та стабільність зразків та підготовлених реагентів зазначено у відповідній глави. Стріпи мікропланшета стабільні до зазначеного терміну придатності після відкриття набору. Переконайтесь, що відкритий пакет щільно закривається при зберіганні при температурі 2-8 ° C.

6. ЗБІР ЗРАЗКІВ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Слина

Пацієнт не повинен їсти, пити, жувати ясна чи чистити зуби за 30 хв до відбору проб. В іншому випадку промийте рот ретельно холодною водою за 5 хв до збору зразка. Не збирайте зразки при захворюванні ротової порожнини, запаленні або зараженні крові.

Слину можна зібрати у відповідний пристрій для відбору зразків. Слід зібрати мінімум 0,5 мл рідини. Рекомендується заморожувати зразки при температурі -20 ° C перед лабораторним аналізом. Після відтавання перемішайте і центрифугуйте 10 хв при 2000 - 3000 x g для видалення твердих частинок.

Слідкуйте за тим, щоб проби слини були візуально прийнятними.

(Червонуватий колір вказує на зараження крові)

Не використовуйте будь-які прилади ПЕ (поліетилену) або Саліветти для відбору проб; це в більшості випадків призведе до значних впливів. Також можуть використовуватися скляні пробірки, але в цьому випадку особлива увага

необхідна для виключення будь-яких впливів, викликаних пробкою.

зберігання	18-25°C	2-8°C	-20°C (аліквоти)
стабільність	>2 тижнів	>4 тижнів	≥6 місяців

7. МАТЕРІАЛИ НАДАНІ

кількість	символ	компонент
1x12x8	MTP	Мікропланшет Розбірні стріпи. Покриті антитілами проти Прогестерону (мишачі моноклональні)
1x6x1 мл	CAL A-F	Стандарт А-Ф Готовий до використання. 0; 25; 50; 250; 1000; 5000 пг / мл Містить: Прогестерон, стабілізатори, <0,1% ProClin 300
1x2x1 мл	CONTROL 1+2	Контроль 1+2 Готовий до використання. Містить: Прогестерон, стабілізатори, <0,1% ProClin 300. Точні концентрації див. На етикетках на флаконах або сертифікаті якості.
1x13 мл	ENZCONJ	Ферментний кон'югат Готовий до використання. Містить: Прогестерон, кон'югований з HRP, стабілізатори
1x100 мл	WASHBUF CONC	Буферний концентрат для промивання (10x) Містить: фосфатний буфер, Твін.
1x15 мл	TMB SUBS	ТМБ - розчин субстрату Готовий до використання. Містить: ТМБ, буфер, стабілізатори
1x15 мл	TMB STOP	ТМБ Стоп Розчин Готовий до використання. 1 M H ₂ SO ₄

8. ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, АЛЕ НЕ НАДАНІ

1. Мікропіпетки (мультиплетний Еппендорф або подібні пристрої, <3% CV). Обсяг: 50; 100 мкл
2. Слід застосувати відповідний пристрій для відбору проб.
3. Вихровий міксер
4. Одноразові скляні пробірки (для розведення зразків)
5. 8-канальна мікропіпетка з резервуарами реагенту
6. Промивна пляшка, автоматизована або напіваавтоматизована система миття мікропланшетів.
7. Рідер мікропланшетів, здатний зчитувати поглинання при 450 нм (довжина референтної хвилі 600-650 нм)
8. Бідистільована або дейонізована вода
9. Паперові рушники, наконечники для піпеток та таймер

9. ПРИМІТКИ ПРОЦЕДУРИ

1. Будь-яке неправильне поводження зі зразками або модифікація процедури випробування може вплинути на результати. Вказані обсяги піпетування, час інкубації, температури та етапи попередньої обробки виконуються строго згідно з інструкцією. Використовуйте тільки калібровані піпетки та пристрої.
2. Після того, як тест розпочато, всі етапи повинні бути виконані без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої готуються у відповідний час. Дозволити всім реагентам і зразкам досягти кімнатної температури (18-25 ° C) і обережно розкручують кожен флакон з рідким реагентом і зразком перед використанням. Змішуйте реагенти без піноутворення.
3. Уникайте забруднення реагентів, піпеток та лунок / пробірок. Використовуйте нові одноразові пластикові наконечники для піпеток, кожного компоненту і зразку. Не міняйте ковпачки. Завжди закривайте флакони, які не використовуються. Не використовуйте повторно лунки / пробірки або реагенти.
4. Рекомендується визначати зразки у двох примірниках, щоб мати можливість ідентифікувати можливі помилки піпетування.
5. Використовуйте схему піпетування, щоб перевірити відповідну компоновку пластини.
6. Час інкубації впливає на результати. Усі лунки повинні оброблятися в одному порядку та часовій послідовності. Рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку для піпетування розчинів у всіх лунках.
7. Промивання мікропланшетів важливе. Неправильно промиті лунки дадуть помилкові результати. Рекомендується використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну систему промивання

Версія 2018-04

мікропланшетів. Не дати лункам висохнути між інкубаціями. Не подряпайте покриті лунки під час промивання та аспірації.

Промийте та наповніть усі реактиви обережно. Під час полоскання перевірте, чи всі лунки заповнені точно промивним буфером, і що в лунках немає залишків.

8. Вологість впливає на покриті лунки / пробірки. Не відкривайте пакет, поки він не досягне кімнатної температури. Невикористані лунки / пробірки слід негайно повернути в запечатаний пакет, включаючи осушувач.

10. ІНСТРУКЦІЇ З ПОПЕРЕДНЬОГО НАЛАШТУВАННЯ

Вміст набору для 96 визначень можна розділити на 3 окремих прогони.

Викладені нижче обсяги є для одного прогону з 4 стріпами (32 визначення).

10.1. Приготування концентрованих компонентів

Розвести/ розчинити	компонент		розчинник	Спів- відношення	зауваження	зберігання	стабільність
30 мл	WASHBUF CONC	Додати 300 мл	Бідистильована вода	1:10	Змішати ретельно	2-8°C	4 тижні

10.2. Розведення зразків

Зразки, які підозрюють, що містять концентрації, що перевищують найвищу норму, повинні бути розведені розчинником для зразків (доступний від IBL REF KLZZ731). **Примітка:** Розведення потрібно проводити у скляних пробірках.

Отримані результати необхідно помножити на коефіцієнт розведення для отримання скоригованих результатів.

11. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

1. Піпетувати 50 мкл кожного стандарту, контролю та зразку у відповідні лунки мікропланшету.
2. Піпетуйте 100 мкл ферментного кон'югату в кожну лунку. Ретельно перемішайте протягом 10 секунд.
3. Інкубуйте 60 хв при 18-25 ° C.
4. Видаліть інкубаційний розчин. Промийте пластину 3 x 250 мкл розведеного промивочого буфера. Видаліть надлишки розчину, натиснувши перевернутим планшетом на паперовий рушник.
5. Піпетуйте 100 мкл розчину субстрату ТМБ в кожну лунку.
6. Інкубуйте 30 хв при 18-25 ° C.
7. Зупиніть реакцію субстрату, додавши в кожну лунку 100 мкл стоп-розчину ТМБ. Струсити планшет різко. Колір змінюється від синього до жовтого.
8. Виміряйте оптичну густину за допомогою фотометра при 450 нм (довжина референтної хвилі: 600–650 нм) в межах 15 хв після піпетування стоп-розчину.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати тестування є дійсними лише в тому випадку, якщо тест проводився згідно з інструкціями. Більше того, користувачі повинні суворо дотримуватися правил НЛП (Належної лабораторної практики) або порівняних стандартів / законів. Користувач та / або лабораторія повинна мати валідовану систему для діагностики відповідно до НЛП. Усі контролю повинні бути знайдені в межах прийнятного діапазону, як зазначено на етикетках та сертифікаті QC. Якщо критерії не виконані, прогон недійсний і його слід повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки в якості подальшого контролю.

Рекомендується брати участь у відповідних випробуваннях з оцінки якості.

У разі будь-якого відхилення слід підтвердити наступні технічні питання: Терміни придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, пристрої, умови інкубації та способи промивання.

13. ОБЧИСЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані ОГ стандартів (вісь у, лінійна) будуються на основі їх концентрації (вісь х, логарифмічна) або на напівлогарифмічному графічному папері, або за допомогою автоматизованого методу. Гарна відповідність забезпечується кубічним сплайн, 4 параметра логістики або Logit-Log.

Для обчислення стандартної кривої застосуйте кожен сигнал стандартів (у випадку явних відхилених даних одного з двох повторів від очікуваного дозволено використовувати більше акуратне значення).

Концентрацію зразків можна прочитати безпосередньо зі стандартної кривої.

У разі розведених зразків значення необхідно помножити на відповідний коефіцієнт розведення.

Зразки, що показують концентрації вище найвищого стандарту, повинні бути розведені, як описано в ІНСТРУКЦІЇ з попереднього налаштування та переглянуті.

Зразки слини з надзвичайно підвищеними значеннями слід переглянути на предмет зараження крові.

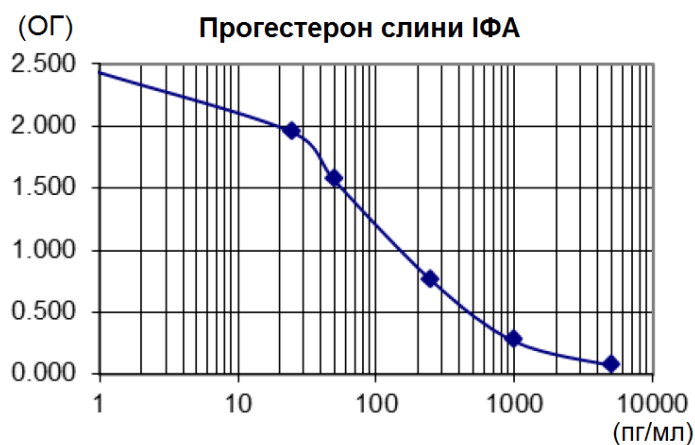
Конверсія:

Прогестерон (пг / мл) $\times 3,17$ = пмоль / л

Типова калібрувальна крива

(Приклад. Не використовувати для обчислення!)

стандарт	Прогестерон (пг/мл)	ОГ середнє	ОГ/ОГ макс (%)
A	0	2.447	100.0
B	25	1.948	80
C	50	1.560	64
D	250	0.757	31
E	1000	0.265	11
F	5000	0.072	3



14. Очікувані значення

Самі результати не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Вони повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

Наприклад, наступні еталонні значення були встановлені за допомогою люмінесцентного імуноаналізу IBL прогестерону (RE62021):

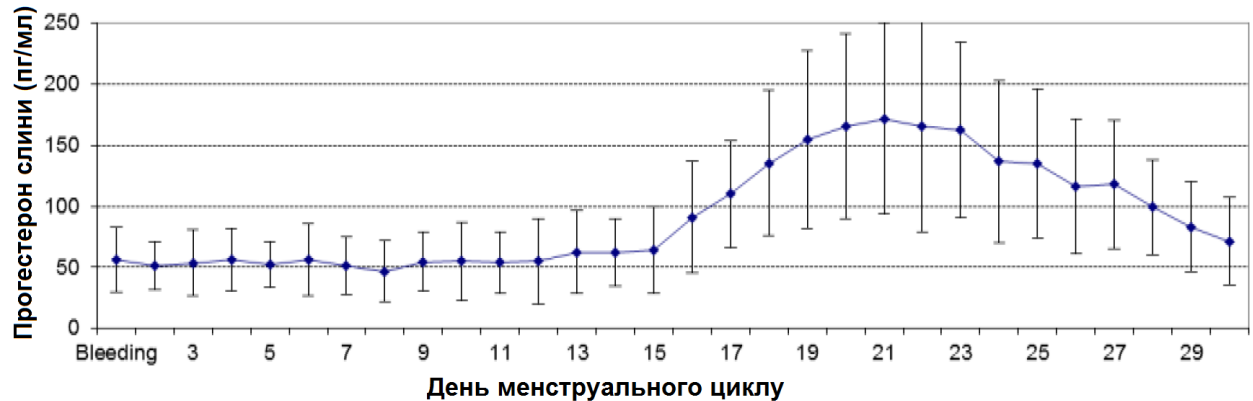
	Прогестерон (пг/мл)		
♀	Пременопауза (кількість=27 місячних профілів)	Фолікулярна фаза	28-82 пг/мл
		Лютеальна фаза	127-446 пг/мл
	Пост менопауза (кількість=6)		18-51 пг/мл
♂			< 51 пг/мл

Рекомендується кожній лабораторії встановлювати власний діапазон нормальних значень.

Для встановлення нормального діапазону для люмінесцентного імуноферментного аналізу на прогестерон було проведено дослідження з пременопаузальними жінками збирати проби слини тричі на день (вранці, полудні та вдень). Об'єднали 3 зразки і виміряли концентрацію прогестерону, щоб отримати добову величину

протягом менструального циклу. Було помічено, що деякі жінки можуть мати періодичні атипові профілі. У 4 жінок в у цьому дослідженні було виявлено нетипові профілі прогестерону. На наступній діаграмі показані результати дослідження.

Менструальний цикл 27 жінок (вік: 19-43 роки) без контрацептивів



15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Збір та зберігання зразків суттєво впливають на результати випробувань. Див. ЗБІР ЗРАЗКІВ І ЗБЕРІГАННЯ для деталей.

Щодо перехресної реактивності, дивіться ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ.

16. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

Аналітична специфічність (перехресна реактивність)	речовина	Перехресна реактивність (%)	речовина	Перехресна реактивність (%)
	17 альфа гідроксипрогестерон	0,68	17 альфа гідроксипрегненолон	0,03
	прегненолон	0,23	кортикостерон	0,02
	дезоксикортикостерон	0,12	естрон	0,02
	ДГЕА	0,05	естрадіол	≤0,001%
	андростендіон	0,05	естріол	≤0,001%
	21-деоксикортизол	0,03	кортизол	≤0,001%
	тестостерон	0,03	кортизон	≤0,001%
Аналітична чутливість	3,13 пг/мл	Середній сигнал (нуль-стандарт) -2СВ		
Точність В аналізі Між аналізами Між лотами	Діапазон (пг/мл)	Середнє (%)	CV (%)	зразки
	31-2837	4,9	3,8-6,6	4 n=20
	21-1582	6,7	4,4-9,6	4 n=10
	22-1560	7,3	5,4-9,0	4 n=10
лінійність	Діапазон (%)	Середнє (%)	Серійне розведення до	
	94-110	103	1:16	n=4
відновлення	Діапазон (%)	Середнє (%)	Додана концентрація	
	137-165	154	100-600 пг/мл	n=5
Метод порівняння		IBL-ІФА = 0.9306 x IBL люмінесцентний ІА - 4.5355	r ² = 0.94; r = 0.97; n = 118	

17. ЛІТЕРАТУРА

1. Gray S. et al. 2010, Salivary Progesterone Levels Before Menarche: A Prospective Study of Adolescent Girls. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(7):3507–3511
2. Kumari V. et al. 2010, Evidence for a Role of Progesterone in Menstrual Cycle-Related Variability in Prepulse Inhibition in Healthy Young Women. *Neuropsychopharmacology* 35:929–937
3. Schoofs D, Wolf O. 2011. Are salivary gonadal steroid concentrations influenced by acute psychosocial stress? A study using the Trier Social Stress Test (TSST). *International Journal of Psychophysiology* 80:36–43
4. Lewis, J.G. 2006. Steroid Analysis in Saliva: An overview. *Clin Biochem Rev* Vol 27 139-146
5. Wood, P. 2009. Salivary steroid assays – research or routine? *Ann Clin Biochem* 46: 183–196

УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред'явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.

ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОГО (-ИХ) НАБОРУ(ІВ) . ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH	Тел.:	+ 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11
	Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург,	E-MAIL:	IBL@IBL-International.com
	Німеччина	WEB:	http://www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул.Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua, www.ivset.ua