

**PROGESTERONE
ПРОГЕСТЕРОН**
**ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕННО
ИЗСЛЕДВАНЕ НА НИВАТА НА ПРОГЕСТЕРОН В СЕРУМ ИЛИ ПЛАЗМА
ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Нивото на прогестерон се изчислява въз основа на измерената спектрофотометрично при 450 nm абсорбция на получения при реакцията цвят.

РЕАГЕНТИ

- Goat Anti-Rabbit IgG Coated Microtiter, 96 Wells
- Reference Standards: 0, 0.5, 3.0, 10, 25, 50 ng/ml, течни, готови за употреба, 0.5 ml всеки
- Rabbit Anti-Progesterone Reagent, 7 ml (розов цвят)
- Progesterone-HRP Conjugate Concentrate (11x), 1.3 ml
- Progesterone-HRP Conjugate Diluent, 13 ml
- Progesterone Control 1, 0.5 ml, течен, готов за употреба
- Progesterone Control 2, 0.5 ml, течен, готов за употреба
- TMB Reagent, 11 ml, готов за употреба
- Stop solution (1N HCl), 11 ml.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- 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.
- Не използвайте реактивите след изтичане на срока на годност и не смесвайте компоненти от кутии с различен партиден номер.
- Не използвайте реактива, ако е станал замърсен и мътен.
- Не използвайте реактива, ако шишенцето е лукнато или повредено.
- Веднага поставйте капачките и не разменяйте капачките на различни шишенца.
- Всяка ямка може да се използва само веднъж.
- Не пипетирайте с уста.
- Разтвори съдържащи добавки или консерванти, например натриев азид не трябва да се използват при ензимни реакции.
- 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.
- Само за ин витро диагностична употреба.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА ТЕСТА

Неотворените тестове трябва да се съхраняват при 2-8°C, 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 прибират в хладилник веднага след употреба и 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 0-3 OD или повече при 450 nm дължина на вълната.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Тестът е приложим само за серум. Не е необходима специална предварителна обработка на пробата. Ако тестът няма да се извърши непосредствено след вземане на пробата, поставете пробата при 2-8 °C до 24 часа или за по-дълги периоди на съхранение замразете при -20°C. Не използвайте силно хемолизирани или силно липемични или мътни проби. Не използвайте проби, съдържащи натриев азид.

БЕЛЕЖКИ ПО ПРОЦЕДУРАТА

- 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.
- 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.
- Всички стандарти, проби и контроли, които се пускат в дублиращо измерване трябва да се пускат едновременно, за да са поставени при еднакви условия.
- Препоръчва се всички ямки да бъдат отчетени до 15 минути след досбяването на Stop Solution.

ПОДГОТОВКА НА РЕАГЕНТИТЕ

- Поставете всички реагенти при стайна температура (18-25°C) преди употреба.
- За да приготвите работния Progesterone-HRP Conjugate реагент, добавете 0.1 ml Progesterone-HRP Conjugate Concentrate (11x) към 1.0 ml Progesterone-HRP Conjugate Diluent (разредяне 1:10) и разбъркайте добре. Пригответе необходимото ви количество работен реагент в зависимост от броя на пробите. Изхвърлете остатъка след употреба.

- Проби с очаквани стойности на прогестерон над 50 ng/ml могат да бъдат разредени с разреждащ разтвор, който можете да закупите отделно.

ПРОЦЕДУРА

- Поставете желаните брой гнезда в носача.
- Пипетирайте 25 µl от стандартите, контролите и пробите в съответните гнезда.
- Пипетирайте 100 µl работен Progesterone-HRP Conjugate реагент във всяко гнездо.
- Пипетирайте 50 µl Rabbit Anti-Progesterone Reagent във всяко гнездо.
- Размесете добре 30 секунди. *Пълното размесване на пипетираните компоненти е много важно.*
- Инкубирайте при стайна температура (18-25°C) 90 минути.
- Измийте ямките 5 пъти с дестилирана или дейонизирана вода, като преди всяко миене изтръсквате плаката, за да се изпразни добре. Изступайте рязко ямките върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
- Пипетирайте 100 µl TMB реагент във всяко гнездо. Леко разклатете ямките в продължение на 10 секунди.
- Инкубирайте при стайна температура 20 минути.
- Спрете реакцията като добавите 100 µl Stop Solution във всяко гнездо.
- Леко разклатете в продължение на 30 секунди. *Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.*
- Отчетете абсорбцията при 450 nm с ELISA апарат до 15 минути.

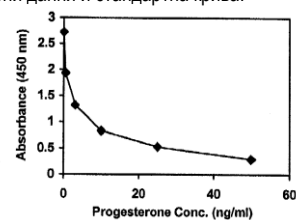
ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- Изчислете средната абсорбция (A_{450}) за всеки комплект референтни стандарти, контроли и проби на пациенти.
- Конструирайте стандартна крива въз основа на средната абсорбция спрямо съответната концентрация на стандартите, като стойностите на абсорбцията се нанасят по вертикалната (y) ос, а на концентрациите – по хоризонталната (x) ос.
- Използвайте средната стойност на абсорбцията за всяка проба, за да определите съответната концентрация на прогестерон в ng/ml от стандартната крива.
- Стойностите, получени от разредени 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.

Progesterone (ng/ml)	A_{450}
0	2.719
0.5	1.937
3	1.391
10	0.828
25	0.528
50	0.291


ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА

Всяка лаборатория трябва да установи собствени обхвати от нормални стойности. Дадените стойности могат да служат само като ориентир.

Мъже:	0.13 – 0.97 ng/ml
Деца преди пубертет	0.07 – 0.52 ng/ml
Жени:	
фоликуларна фаза	0.15 – 0.70 ng/ml
лутеална фаза	2.00 – 25.0 ng/ml
след менопауза	0.06 – 1.60 ng/ml
Бременни:	
първи триместър	10.3 – 44.0 ng/ml
втори триместър	19.5 – 82.5 ng/ml
трети триместър	65.0 – 229 ng/ml

Минималното ниво на прогестерон, което този тест може да открие е 0.3 ng/ml.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

- Надеждни и възпроизводими резултати могат да се постигнат само ако описаната процедура се разбира напълно и спазва точно.
- Като при всички подобни тестове неправилно извършено миене може да причини неточни и невъзпроизводими резултати.
- Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
- Резултатите, получени при този тест трябва да се използват като допълнение към другите диагностични процедури и известната на лекаря информация.

REV:020510

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