

**LUTEINIZING HORMONE
LH
ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ**

ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА ХОРМОН (LH) В СЕРУМ.

ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Концентрацията на LH 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. LH Reference Standards: 0, 5, 15, 50, 100 and 200 mIU/ml лиофилизирани
3. Enzyme Conjugate Reagent, 13 ml
4. TMB Reagent A, 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 реактива, ако шишенцето е пукнато или повредено.
5. Веднага поставяйте 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. Не използвайте силно хемолизирани или силно липемични проби. Ако тестът няма да се извърши непосредствено след вземане на пробата, поставете серума при 2-8 °C до 48 часа или замразете при -20 °C или по-ниска температура за по-дълги периоди на съхранение. След размразяване обърнете пробата нагоре-надолу няколко пъти за добро размесване.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

1. Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура преди употреба.
2. Завъртете леко шишенцата, за да се размесят реагентите. 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 при 2-8 °C поне 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. Препоръчва се използване на многоканална пипета.
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 желания брой гнезда в носача.
2. Пипетирайте 50µl от стандартите, пробите и контролите в съответните гнезда.
3. Пипетирайте 100µl от Enzyme Conjugate Reagent във всяко гнездо.
4. Разбъркайте добре в продължение на 30 секунди. Доброто размесване е много важно.
5. Инкубирайте при стайна температура (18-25 °C) 45 минути.
6. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с гнездата в контейнер за отпадъци или в мивката.
7. Измийте гнездата с дейонизирана или дестилирана вода (не използвайте вода от чешмата) 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате гнездата.
8. Изгубайте ръчно гнездата върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
9. Пипетирайте 100µl от разтвора TMB във всяко гнездо. Леко разбъркайте 5 секунди.
10. Инкубирайте при стайна температура на тъмно 20 минути.
11. Спрете реакцията като добавите 100µl Stop Solution (1N HCl) във всяко гнездо.
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.

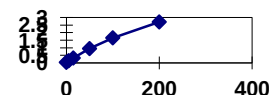
ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

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 TSH в mIU/ml от стандартната крива.
4. Всички разреждени проби трябва да се коригират със 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.

LH (mIU/ml)	Абсорбция (450nm)
0	0.043
5	0.148
15	0.328
50	0.947
100	1.656
200	2.704



ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой обхват от очаквани стойности. Дадените по-долу стойности могат да служат само като ориентир.

	LH (mIU/ml)
мъже	1.24-7.8
жени	
фоликуларна фаза	1.68 – 15.0
овулационен пик	21.9 - 56.6
лутеална фаза	0.61 - 16.3
след менопауза	14.2 – 52.3

Минималната концентрация, която настоящият тест може да открие е 1 mIU/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. Серумните проби, изследвани с този тест не трябва да съдържат никакви добавки, EDTA доказано интерферира с процедурата на теста.
4. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
5. 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.

Re:060514

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