НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ФОЛІКУЛОСТИМУЛЮЮЧОГО ГОРМОНУ (FSH), ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ (LH), ХОРІОНІЧНОГО ГОНАДОТРОПІНУ ЛЮДИНИ (HCG), ПРОЛАКТИНУ (sPRL) ПАНЕЛЬ ФЕРТИЛЬНОСТІ

8325-300, Fertility Panel

Каталог. №: ***8325-300*** *Методика від* ***11-22-2010***
Кількість ***: 2 x 96*** *Версія* ***2***
Виробник ***: Monobind Inc., (США)***

Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Призначення: кількісне визначення концентрації ФСГ, ЛГ, ХГЛ, ПРЛ в людській сироватці або плазмі методом імуноферментного аналізу в мікропланшетному форматі.

ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ

Концентрація хоріонічного гонадотропіну (ХГЛ) в крові та сечі різко зростає під час нормальної вагітності. ХГЛ виділяється плацентарною тканиною, починаючи з примітивного трофобласту, майже з моменту імплантації, і служить для підтримки жовтого тіла протягом перших тижнів вагітності. ХГЛ або аналогічні до ХГЛ глікопротеїни також можуть вироблятись різноманітними трофобластними і не трофобластними пухлинами. Вимірювання ХГЛ, аналітичними системами з відповідною чутливістю та специфікою, має велике значення при виявленні вагітності та діагностиці *ранніх* порушень вагітності. ХГЛ в сироватці та сечі виявляються вже через 10 днів після овуляції, досягаючи 100 мМОд/мл до перших пропущених місячних.

Пік від 50 000 до 100 000 мМОд/мл досягається до третього місяця, потім спостерігається поступове зниження (2, 3).

Пролактин (PRL), який виділяється з лактотрофів передньої долі гіпофізу, являє собою білок, що складається з одного поліпептидного ланцюга, що містить приблизно 200 амінокислот. Первинна біологічна дія гормону відбувається в молочній залозі, де вона бере участь у рості залози та індукції та підтримки виробництва молока. Є дані, які дозволяють припустити, що пролактин може бути залучений до стероїдогенезу в половій залозі, діючи синергічно з лютеїнізуючим гормоном (ЛГ). Високі рівні пролактину гальмують стероїдогенез, а також пригнічують синтез ЛГ та Фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) у гіпофізі (1,2).

Була підтверджена клінічна корисність вимірювання пролактину (ПРЛ) при встановленні діагнозу гіперпролактинемії та для подальшого моніторингу ефективності лікування (3,4).

Лютеїнізуючий гормон (ЛГ) - це глікопротеїн, що складається з двох субодиниць з молекулярною масою 30 000 дальтонів. α-субодиниця подібна до інших гормони гіпофіза [Фолікулостимулюючий гормон (ФСГ), Тиреотропний гормон (ТТГ) і Хоріонічний гонадотропін (ХГ)], тоді як β-субодиниця є унікальною. β-субодиниця надає біологічну активність молекулі. α-субодиниця складається з 89 амінокислотних залишків, тоді як β-субодиниця містить 129 амінокислот. Вміст вуглеводів становить від 15% до 30%.

Фолікул-стимулюючий гормон (ФСГ) - це глікопротеїн, що складається з двох субодиниць з приблизною молекулярною масою 35 500 дальтонів. α-субодиниця схожа на інші гормони гіпофіза [Лютеїнізуючий стимулюючий гормон (ЛГ), Тиреотропний гормон (ТТГ) і Хоріонічний гонадотропін (ХГ)], тоді як β-субодиниця є унікальною. β-субодиниця надає біологічну активність молекулі. Стимуляція гонадотропін-вивільнюючого гормону (GnRH) викликає вивільнення ФСГ, а також ЛГ, з боку гіпофізу і транспортується кров'ю до своїх активних сайтів, яєчок або яєчників.

Клінічну корисність вимірювання Лютеїнізуючого гормону (ЛГ) при встановленні гомеостазу регуляції фертильності через гіпоталамо-гіпофізарно-гонадальну вісь було доведено (1,2). Крім того, поява технології in vitro запліднення (IVF) для подолання проблем, пов'язаних з безпліддям, забезпечила поштовх для швидкого вдосконалення методу аналізу ЛГ з технічно вимогливого біологічного аналізу (3) до процедурно простих та швидких імуноферментних аналізів.

У чоловіків ФСГ діє на клітини Сертолі яєчка, стимулюючи синтез інгібіну, який специфічно інгібує подальшу секрецію ФСГ та андроген-зв'язуючий білок. Таким чином, він опосередковано підтримує сперматогенез (7).

У жінок ФСГ діє на зернисті клітини яєчника, стимулюючи стероїдогенез. Всі овуляторні менструальні цикли мають характерний ритм секреції ФСГ, а також ЛГ. Менструальний цикл поділяється на фолікулярну фазу і лютеїнову фазу викидом гонадотропінів (ЛГ і FSH) на середині циклу. Коли фолікулярна фаза прогресує, концентрація ФСГ зменшується. З наближенням овуляції, на середині циклу, ФСГ зростає (з меншою силою, ніж ЛГ) до свого найвищого рівня (8).

У цьому методі в лунки з нанесеним стрептавідином спочатку вноситься комбінований калібратор ХГЛ/PRL/ЛГ/ФСГ (в інструкції зазначений як антигеном), зразок пацієнта або контроль. Додаються біотинильовані моноклональні та ферментно-мічені антитіла (спрямовані проти різних епітопів гормонів) та змішуються. Реакція між різними антитілами (специфічними для відповідних гормонів) та природними гормонами утворює сендвіч-комплекс, який зв'язується зі Стрептавідином, нанесеним в лунки.

У процедурі PRL використовується послідовний метод додавання антитіл. Тобто спочатку вводять біотинильоване антитіло, і після відповідного періоду реакції планшет промивають. Потім додають антитіло, яке пов'язане з ферментом, спрямоване проти іншого епітопу, і пластина аналізується як і з іншими антигенами.

Після закінчення необхідного періоду(ів) інкубації кон'югат антигена з ферментно-зв'язаним антитілом відділяють від кон'югату незв'язаний фермент-антиген шляхом аспірації або декантування. Активність ферменту, присутнього на поверхні лунки, кількісно вимірюється реакцією з відповідним субстратом для отримання забарвлення.

Застосування декількох референтних сироваток з відомими рівнями гормонів дозволяє побудувати криву «доза-відповідь» активності та концентрації. При порівнянні з кривою активність невідомого зразка може бути корельована з конкретною концентрацією гормонів.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Імуноферментний аналіз

Реагенти, необхідні для імуноферментного визначення, включають високо афінні та специфічні антитіла (мічені ферментом та іммобілізовані) з різними епітопами для розпізнавання, **в надлишку,** та нативний антиген. В даній процедурі відбувається зв'язування на поверхні лунок при взаємодії стрептавідину, яким покриті лунки, та внесених біотинильованих моноклональних антитіл.

При змішуванні моноклональних біотинильованих антитіл , фермент-мічених антитіл та сироватки, що містить нативний антиген, відбувається реакція між нативним антигеном і антитілами, без конкуренції та просторових забруднень, з формуванням розчинного сандвіч-комплексу. Взаємодія ілюструється рівнянням:

$$^{Enz}Ab + Ag_{(Антиген)} + {}^{Btn}Ab_{(m)} \underset{k_{-a}}{\overset{k_a}{\rightleftharpoons}} {}^{Enz}Ab_{(p)} - Ag_{(Антиген)} - {}^{Btn}Ab_{(m)}$$

$^{Btn}Ab_{(m)}$ = Біотинильоване моноклональне антитіло (Надлишкова кількість)
$Ag_{(Антиген)}$ = Нативний антиген (Змінна кількість)
$^{Enz}Ab_{(p)}$ = Фермент-мічене Поліклональне антитіло (Надлишкова кількість)
$^{Enz}Ab_{(p)} - Ag_{(Антиген)} - {}^{Btn}Ab_{(m)}$ = Сендвіч-комплекс Антиген-Антитіло
k_a = Константа швидкості асоціації
k_{-a} = Константа швидкості дисоціації

Одночасно в лунках утворюється комплекс при реакції високоафінного стрептавідину і біотинильованих антитіл. Ця взаємодія ілюструється так:

$$^{Enz}Ab_{(p)} - Ag_{(Антиген)} - {}^{Btn}Ab_{(m)} + Стрептавідин_{C.W.} \Rightarrow Іммобілізований\ Комплекс$$

$Стрептавідин_{C.W.}$ = Стрептавідин, нанесений в лунках
Іммобілізований Комплекс = сендвіч-комплекс, пов'язаний з твердою поверхнею.

Для пролактину внесення антитіл розділене на два послідовних кроки. Тобто, біотинильовані антитіла зв'язуються з антигеном пролактину і одночасно з поверхнею лунок. При другій інкубації зв'язуються фермент-мічені антитіла з антигеном, пов'язаним з лункою через біотинильовані антитіла.

Після досягнення рівноваги фракція, пов'язана з антитілами, відділяється від незв'язаних антигенів декантацією або аспірацією і наступним промиванням. Активність ферменту у фракції пов'язаних антитіл прямо пропорційна концентрації нативного антигену. При використанні декількох стандартів з відомим значенням концентрації антигену будується калібрувальна крива, по якій обчислюється концентрація невідомих зразків.

РЕАГЕНТИ ДЛЯ 2 x 96-ЛУНКОВИХ ПЛАНШЕТІВ, постачаються

A. Калібратори – 1 мл в флаконі
Шість флаконів стандартів антигенів з концентраціями, зазначеними нижче. Калібратори на основі людської сироватки прокалібровані по референсним Препаратам. Містять консерванти.

Аналіт	ХГЛ мМОд/мл	ЛГ мМОд/мл	ПРЛ нг/мл	ФСГ мМОд/мл
A	0	0	0	0
B	25	5	10	5
C	100	25	25	10
D	250	50	50	25
E	500	100	100	50
F	1000	200	250	100
Реф. №	3 IS (75/537)	1 IRP (68/40)	3 IS (84/500)	2 IRP (78/549)

B. Ферментний реагент ХГЛ – 13 мл у флаконі
Один флакон, що містить фермент-мічені антитіла і біотинильовані моноклональні мишачі IgG, специфічні для ХГЛ, в буфері, блакитний барвник і консервант. Зберігати при 2-8 °C.

C. Біотиновий Реагент sPRL – 13 мл у флаконі
Один флакон, що містить біотинильовані антитіла в буфері, специфічні до ПРЛ, зелений барвник і консервант. Зберігати при 2-8 °C.

D. Ферментний реагент sPRL – 13 мл у флаконі
Один флакон, що містить фермент-мічені антитіла, специфічні для ПРЛ, в буфері, червоний барвник і консервант. Зберігати при 2-8 °C.

E. Ферментний реагент ЛГ – 13 мл у флаконі
Один флакон, що містить фермент-мічені антитіла і біотинильовані моноклональні мишачі IgG, специфічні для ЛГ, в буфері, жовтий барвник і консервант. Зберігати при 2-8 °C.

F. Ферментний реагент FSH – 13 мл у флаконі
Один флакон, що містить фермент-мічені антитіла і біотинильовані моноклональні мишачі IgG, специфічні для ФСГ, в буфері, зелений барвник і консервант. Зберігати при 2-8 °C.

G. Концентрат розчину для промивання – 20 мл
Один флакон, що містить ПАВ в буферному розчині. Додано консервант. Зберігати при 2-30 °C.

H. Розчин субстрату A – 2 x 7 мл/флакон
Два флакони, що містять ТМБ в ацетатному буфері. Зберігати при 2-8 °C.

I. Розчин субстрату B – 2 x 7 мл/флакон
Два флакони, що містять перекис водню в ацетатному буфері. Зберігати при 2-8 °C.

J. Мікропланшет, покритий стрептавідином – 2 x 96 лунок
Два 96-лункових микропланшета, покритих стрептавідином та запакованих в алюмінієву фольгу з осушувачем. Зберігати при 2-8 °C.

K. Стоп-розчин – 2 x 8.0 мл/флакон
Два флакони, що містять сильну кислоту (1N HCl). Зберігати при 2-30 °C.

L. Інструкція.

Зауваження 1: Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
Зауваження 2: Відкриті реагенти стабільні до 60 днів при зберіганні при 2-8 °C.

Необхідні матеріали, що не поставляються з набором
1. Мікродозатори на 25, 50 та 100 мкл с точністью не гірше 1.5%
2. Диспенсери на 300 мкл с точністью не гірше 1.5%
3. Мікропланшетний вошер
4. Мікропланшетний люмінометр
5. Посуд для приготування реагентів
6. Фільтрувальний папір для просушування планшету
7. Пластикова плівка чи кришка для інкубації мікропланшету
8. Вакуумний аспіратор (опційно) для промивання
9. Таймер
10. Контейнер для зберігання Промивного Буфера
11. Дистильована або іонізована вода

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Набір призначений тільки для діагностики in-vitro
Не для внутрішнього або зовнішнього використання
на людях або тваринах

Використовувана для виготовлення компонентів набору людська сироватка протестована методами, схваленими FDA, в яких отримані негативні результати на наявність антитіл до ВІЛ 1 та 2, HCV і поверхневого антигену гепатиту В. Однак, оскільки не існує методів, що дають повну гарантію відсутності інфекційних агентів, з реагентами слід поводитися з обережністю, як з потенційно небезпечним біоматеріалом, що рекомендується для будь-яких зразків крові згідно правил кваліфікованої лабораторної практики. Рекомендації дивіться в національних посібниках з біобезпеки або, наприклад, в "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, "2nd Edition, 1988, HHS.

ЗАБІР ТА ПРИГОТУВАННЯ ЗРАЗКІВ
Зразками слугує кров, у вигляді сироватки. Забір крові здійснюйте з дотриманням звичайних правил при венепункції. Для порівнюваності з встановленими нормальними величинами рекомендується отримати зразки сироватки ранком натще. Зберіть кров в пробірки для венепункції з червоною кришечкою без добавок чи антикоагулянтів (для сироватки) чи в пробірку з ЕДТА або гепарином для плазми. Дозвольте крові згорнутись (для сироватки). Відцентрифугуйте зразок для відділення сироватки від клітин.
Зразки можуть бути охолоджені до 2-8 °C на термін максимум 5 днів. Якщо зразки не досліджуватимуться в цей час, зберігайте їх при -20 °C до 30 днів. Уникайте повторних циклів заморожування/відтавання. Для аналізу в дублях потрібно 0.100 мл сироватки для ЛГ і ФСГ і 0.050 мл зразка для ПРЛ і ХГЛ.

ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ
1. **Промивний розчин**
   Розведіть вміст концентрату промивного буферу до 1000 мл дистильованою чи деіонізованою водою в придатній посудині. Зберігати при кімнатній температурі до закінчення строку придатності.
2. **Робочий розчин субстрату**
   Перенесіть вміст бурштинового флакону розчину "A" у флакон з розчином "B". Закрийте жовтою кришкою для зручної ідентифікації. Перемішайте та зберігайте при 2-8 °C.

Зауваження 1: Не використовуйте робочий субстрат, якщо він виглядає голубим.

ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ (ХГЛ, ЛГ та ФСГ)
Перед початком аналізу всі реагенти, стандарти та контролі повинні досягнути кімнатної температури (20-27°C).
1. Виберіть необхідну кількість лунок для зразків, стандартів і контролів для постановки в дублях. **Поверніть невикористовувані стрипи назад в алюмінієвий пакет і закрийте його. Зберігайте при 2-8 °C.**
2. **A. <u>Для ХГЛ:</u>** Внесіть 0.025 мл (25 мкл) відповідної референтної сироватки, контролю чи зразка в позначену лунку.
   B. <u>Для ЛГ та ФСГ:</u> Внесіть 0.050 мл (50 мкл) відповідної референтної сироватки, контролю чи зразка в позначену лунку.
3. Додайте піпеткою по 100 мкл відповідного ферментного реагенту в кожну лунку. **Важливо додавати саме потрібний Ферментний реагент для кожного дослідження для отримання правильних результатів.**
4. Перемішайте вміст лунок легкими коловими рухами планшету 20-30 сек. і накрийте.
5. Інкубуйте 60 хвилин при кімнатній температурі для **ЛГ** та /або **ФСГ** або 20 хвилин для **ХГЛ.**
6. Видаліть вміст лунок декантацією чи аспірацією. При декантації осушіть лунки перевертанням планшету на фільтрувальний папір.
7. Внесіть 300 мкл Промивного Буфера (див. розділ "Приготування реагентів") та видаліть його декантацією чи аспірацією. Повторіть ще 2 рази до загальної кількості 3 промивки. **Для цієї процедури краще використовувати автоматичний або ручний вошер відповідно до інструкцій виробника приладів. Якщо використовується гнучка бутилка, наповнити кожну лунку до верху (уникайте повітряних бульбашок). Видаліть вміст і повторіть ще 2 рази.**
8. Внесіть по 100 мкл Субстратного Реагента в кожну лунку (див. "Приготування реагентів").

НЕ СТРУШУЙТЕ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ СУБСТРАТНОГО РОЗЧИНУ

9. Інкубуйте 15 хвилин при кімнатній температурі.
10. Внесіть 50 мкл Стоп-Розчину в кожну лунку та злегка перемішайте до утворення жовтого кольору.
11. Зчитайте абсорбцію в кожній лунці при 450 нм (використовуючи референтну хвилю 620-630 нм) на мікропланшетному рідері. **Зчитування повинно бути проведене до 30 хв. після додавання стоп-розчину.**

Зауваження: дуже важливо додавати всі реагенти в центр лунок. Завжди додавайте реагенти в однаковій послідовності для мінімізації розбіжностей реакційного часу між лунками.

ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ (ПРОЛАКТИН):

1. Виберіть необхідну кількість лунок для зразків, стандартів і контролів для постановки в дублях. Поверніть невикористовувані стрипи назад в пакет, закрийте і зберігайте при 2-8 °С.
2. Внесіть 0.025 мл (25 мкл) відповідної референтної сироватки, контролю чи зразка в позначену лунку.
3. Внесіть 100 мкл біотинового реагенту ПРЛ в кожну лунку. **Важливо додавати саме потрібний Ферментний реагент для кожного дослідження для отримання правильних результатів.**
4. Обережно перемішайте планшет протягом 20-30 секунд і накрийте його пластиковою кришкою.
5. Інкубуйте 30 хвилин при кімнатній температурі.
6. Видаліть вміст лунок декантацією або аспірацією. Висушіть планшет на фільтрувальному папері, якщо використовувалася декантація.
7. Додайте 300 мкл Промивного буфера (див. розділ «Приготування реагентів») і видаліть його. Повторіть процедуру ще два рази (загальна кількість циклів промивки - 3). **Для цієї процедури краще використовувати автоматичний або ручний вошер відповідно до інструкцій виробника приладів. Якщо використовується гнучка бутилка, наповнити кожну лунку до верху (уникайте повітряних бульбашок). Видаліть вміст і повторіть ще 2 рази.**
8. Додайте піпеткою по 100 мкл ферментного реагенту ПРЛ в кожну лунку.
9. Інкубуйте 30 хвилин при кімнатній температурі.
10. Дотримуйтесь кроків 6-10 як у вищеописаній процедурі для ХГЛ, ЛГ і ФСГ.

ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Результати аналізу вважаються дійсними лише при виконанні наступних критеріїв:

1. Оптична густина найвищого Калібратора повинна бути ≥ 1.3
2. Чотири з шести контролів якості повинні вкладатися в установлені інтервали.

РЕЗУЛЬТАТИ

Для визначення концентрації відповідних гормонів в невідомих зразках використовується калібрувальна крива.

1. Запишіть значення оптичної щільності для всіх лунок, як показано в прикладі 1.
2. Для побудови калібрувальної кривої на лінійному графічному папері використовуйте кожну з двох оптичних густин для кожного стандарту залежно від концентрації відповідного антигену (не розраховуйте середнього значення до побудови).
3. Проведіть оптимальну калібрувальну криву за побудованими точками.
4. Визначте невідомі концентрації гормону в контролях і зразках за калібрувальною кривою, використовуючи середні значення оптичної щільності для кожного зразка.

Зауваження: Дані можуть бути оброблені за допомогою комп'ютерної програми. Дублі зразків перераховуються, як показано нижче:

Приклад 1 (ХГЛ). Мал.1 – *Див. Оригінал інструкції*
Приклад 2 (ЛГ). Мал.2 *– Див. Оригінал інструкції*
Приклад 3 (Пролактин). Мал.3 – *Див. Оригінал інструкції*
Приклад 4 (ФСГ). Мал.4 – *Див. Оригінал інструкції*

* Дані, наведені в прикладах, призначені тільки для ілюстрації та не повинні використовуватись для побудови стандартної кривої.

АНАЛІЗ РИЗИКІВ

Якість набору

1. Для відтворюваності результатів важливо, щоб час реакції підтримувався постійним в кожній лунці.
2. Піпетування зразків не повинно перевищувати 10 хвилин.
3. Не використовувати високо ліпемічні, гемолізовані або забруднені зразки.
4. Якщо використовується більше, ніж один планшет, рекомендується повторювати калібрувальну криву.
5. Додавання субстратного розчину ініціює кінетичну реакцію, яка зупиняється при додаванні стоп-розчину. Отже, додавання субстрату і стоп-розчину повинно проводитися в однаковій послідовності для усунення відмінностей у часі реакції в різних лунках.
6. Вимірювання оптичної щільності на рідері проходить вертикально. Не торкайтеся до дна мікролунок.
7. Погана промивка лунок (неповне видалення розчину під час аспірації) може призводити до невідтворюваних і недостовірних результатів.
8. Використовуйте компоненти тільки з одного лота. Не змішуйте реагенти з різних партій.
9. Правильне і точне піпетування, а також дотримання точного часу і температурних вимог є необхідними умовами. Будь-які відхилення від встановлених Monobind можуть давати невірні результати.
10. Дотримуватись всіх встановлених норм роботи лабораторної практики для забезпечення нормальної роботи пристрою.
11. Важливим є калібрування всього обладнання, тобто, піпеток, рідера, вошера та/або автоматизованих інструментів, які використовуються з даним пристроєм. Також обов'язковим є належний догляд і обслуговування пристрою.
12. Аналіз ризиків для даного пристрою може бути наданий Monobind.

Інтерпретація результатів

1. Лабораторні результати не можуть бути єдиним критерієм для визначення лікування, особливо, якщо отримані результати не співпадають з іншими дослідженнями.
2. Для отримання дійсних результатів адекватні контролі та інші параметри повинні знаходитись в межах встановлених норм.
3. Monobind не несе відповідальності за результати тесту в разі, якщо складові набору були замінені іншими складовими з інших наборів, або якщо результати були інтерпретовані невірно.
4. Якщо для обробки результатів тесту використовується комп'ютер, то розраховувані значення стандартів не повинні відхилятися більш, ніж на 10% від приписаних значень концентрації.
5. Хибно позитивні результати можуть бути отримані у присутності великої кількості трофобластичних і нетрофобластичних пухлин, які секретують ХГЛ. Тому можливість секреції ХГЛ неоплазм повинна бути виключена до діагностики вагітності.
6. Також хибно позитивні результати можуть бути для зразків від жінок, що приймали препарати Pergonal* і Clomid**. До того ж Pergonal часто призначається разом із введенням ХГЛ.
7. Самовільний мікроаборт і ектопічна вагітність будуть приводити до більш низького результату тесту, ніж очікується при нормальній вагітності, в той час як більш високі результати часто бувають при багатоплідній вагітності (4, 5,6).
8. Після терапевтичного аборту ХГЛ буде виявлятися протягом 3-4 тижнів. Швидкість зниження ХГЛ після спонтанного аборту залежатиме від кількості живої тканини, трофобласта (4, 5, 6, 7).
9. ЛГ/ФСГ пригнічується естрогенами, але у жінок, що приймають оральні контрацептиви, рівень може бути низьким або нормальним. Надмірно строга дієта і втрата ваги можуть призводити до зниження концентрації гонадотропінів.
10. Концентрація ЛГ/ФСГ залежить від багатьох факторів, не пов'язаних з гомеостазом гіпофіза. Отже, визначення одного лише ФСГ недостатньо для оцінки клінічного статусу.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ (ХГЛ)

Було проведено дослідження невагітних жінок та дорослих чоловіків для отримання результатів на цьому наборі. Середні значення (X), стандартні відхилення (δ) і очікувані діапазони (±δ) представлені в Таблиці 1

Таблиця 1
Очікувані значення для ХГЛ

N	125
Середнє (X)	2.9
Стандартне відхилення (δ)	1.4
Очікуваний діапазон (± 2 δ)	0.1 – 5.7

Очікувані рівні для ХГЛ під час нормальної вагітності (3) представлені в таблиці 2.

Таблиця 2
Очікувані значення для рівнів ХГЛ (3^{ій} IS 75/537) нормальної вагітності в мМОд/мл

1-ий тиждень гестації	10 - 30
2-ий тиждень гестації	30 - 100
3-й тиждень гестації	100 - 1.000
4-ий тиждень гестації	1.000 - 10.000
2-3 місяць гестації	30.000 - 100.000
2-й триместр	10.000 - 30.000
3-й триместр	5.000 - 15.000

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ (ЛГ, ФСГ, ПРЛ)

Було проведено дослідження дорослої популяції для отримання результатів на цьому наборі. Результати дослідження показані в таблиці 3.

Таблиця 3
Очікувані значення для ЛГ, ФСГ, ПРЛ

	ЛГ	ПРЛ	ФСГ
Жінки		Дорослі	
Фолікулярна Фаза	0.8-10.5	1.2-19.2	3.0 - 12.0
Середина Циклу	18.4-61.3		8.0 - 22.0
Лютеиновая Фаза	0.8-10.5		2.0 -12.0
Постменопауза	8.2-40.8		35.0-151.0
Чоловіки	0.7-7.4	1.8-17.0	1.0 - 14.0

Важливо мати на увазі, що встановлений діапазон значень, який можна очікувати у даної популяції "нормальних" людей з використанням даного методу, залежить від безлічі факторів: специфічності методу, тестованої популяції і точності методу в руках лаборанта. З цих причин кожна лабораторія повинна встановити свій власний діапазон нормальних значень.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ

A. Відтворюваність

Відтворюваність даного набору для визначення концентрації всередині серії і між серіями визначалася при аналізі пулу контрольних сироваток трьох різних рівнів. Число вимірювань, середнє значення, стандартне відхилення (σ) і коефіцієнт варіації для цих сироваток наведені в таблицях 4 і 5.

(Таблиці дивіться в оригіналі інструкції).

B. Точність

ЛГ

Справжній метод порівнювався з референсним радіоімунним методом для ЛГ. Використовувалися зразки нормальної популяції і вагітних жінок. Загальна кількість зразків склала 110. Отримані дані наведені в таблиці 6 (для ЛГ).

ТАБЛИЦЯ 6
Лінійна регресія (ЛГ)

Метод	Середнє (x)	Рівняння	Коефіцієнт кореляції
Цей метод	14.8	y = 0.081 + 0.93(x)	0.989
Референсний	15.1		

Було знайдено лише незначне розходження даного методу і референс-методу, що доводять близькі середні значення. Рівняння і коефіцієнт кореляції показують чудову узгодженість методів.

ФСГ

Справжній метод порівнювався з референсним іммунохемілюмінесцентним методом для ФСГ. Використовувалися зразки з низькими і підвищеними рівнями (від 0.1 мМОд/мл до 133 мМОд/мл). Зразки з концентрацією вище найвищого калібратора вимірювалися після розведення 0 калібратором і множилися на фактор розведення. Загальна кількість зразків склала 128. Отримані дані наведені в таблиці 7 (для ФСГ).

ТАБЛИЦЯ 7
Лінійна регресія (ФСГ)

Метод	Середнє (x)	Рівняння	Коефіцієнт кореляції
Цей метод	18.0	y = 0.93(x) – 1.5	0.994
Референсний	21.0		

ХГЛ

Справжній метод порівнювався з референсним радіоімунним методом для ХГЛ. Використовувалися зразки нормальної популяції і вагітних жінок. Загальна кількість зразків склала 110. Отримані дані наведені в таблиці 8 (для ХГЛ).

ТАБЛИЦЯ 8
Лінійна регресія (ХГЛ)

Метод	Середнє (x)	Рівняння	Коефіцієнт кореляції
Цей метод	14.8	y = 0.081 + 0.93(x)	0.989
Референсний	15.1		

Було знайдено тільки незначну розбіжність даного методу і референс-методу, що доводить близькість середніх значень.

Рівняння регресії і коефіцієнт кореляції вказують на прекрасну узгодженість методів.

ПРЛ

Справжній метод порівнювався з референсним хемілюмінесцентним методом для ПРЛ. Використовувалися зразки нормальної популяції і вагітних жінок. Загальна кількість зразків склала 86. Отримані дані наведені в таблиці 9 (для ПРЛ).

ТАБЛИЦЯ 9
Лінійна регресія (ПРЛ)

Метод	Середнє (x)	Рівняння	Коефіцієнт кореляції
Цей метод	19.0	y = 1.63 + 1.01(x)	0.973
Референсний	17.3		

Було знайдено тільки незначну розбіжність даного методу і референс-методу, що доводить близькість середніх значень.

Рівняння регресії і коефіцієнт кореляції вказують на прекрасну узгодженість методів

C. Чутливість

Чутливість методу для ЛГ склала 0.025 мМОд. Це еквівалентно зразку з вмістом 0.5 мМОд/мл ЛГ.

Чутливість методу для ФСГ склала 0.02 мМОд, що еквівалентно зразку, який містить ФСГ в концентрації 0.4 мМОд/мл ФСГ. Чутливість встановлювалася визначенням варіабельності "0" калібратора з використанням 2σ статистичного методу.

Чутливість методу для ХГЧ склала 0.075 мМОд/мл. Це еквівалентно зразку з вмістом 3 мМОд/мл ХГЧ. Чутливість методу для ПРЛ склала 0.04 нг, що еквівалентно зразку, який містить ПРЛ в концентрації 1.6 нг/мл ПРЛ. Чутливість встановлювалася визначенням варіабельності "0" калібратора з використанням 2σ статистичного методу.

D. Специфічність

Перехресна реактивність даного методу визначення ЛГ з вибраними речовинами вивчали додаванням інтерферуючих речовин до сироватки в різних концентраціях. Перехресна реактивність оцінювалася розрахунком відносної дози інтерферуючої речовини до дози ЛГ, необхідного для отримання тієї ж абсорбції.

VAST™ ЛГ

Речовина	Перехресна реактивність	Концентрація
ЛГ	1.0000	-
β-субодиниця ЛГ	< 0.0001	1000 нг/мл
ФСГ	< 0.0001	1000 нг/мл
ХГЛ	< 0.0001	1000 нг/мл
ТТГ	< 0.0001	1000 нг/мл

Перехресна реактивність даного методу визначення ФСГ з вибраними речовинами вивчали додаванням інтерферуючих речовин до сироватки в різних концентраціях. Перехресна реактивність оцінювалася розрахунком відносної дози інтерферуючої речовини до дози ФСГ, необхідного для отримання тієї ж абсорбції.

VAST™ ФСГ

Речовина	Перехресна реактивність	Концентрація
ФСГ	1.0000	-
ЛГ	< 0.0001	1000 нг/мл
ХГЛ	< 0.0001	1000 нг/мл
ТТГ	< 0.0001	1000 нг/мл

Перехресна реактивність даного методу визначення ХГЛ з вибраними речовинами вивчали додаванням інтерферуючих речовин до сироватки в різних концентраціях. Перехресна реактивність оцінювалася розрахунком відносної дози інтерферуючої речовини до дози ХГЛ, необхідного для отримання тієї ж абсорбції.

VAST™ ХГЛ

Речовина	Перехресна реактивність	Концентрація
ХГЛ	1.0000	-
β-субодиниця ХГЛ	< 0.0001	1000 нг/мл
ФСГ	< 0.0001	1000 нг/мл
ЛГ	< 0.0001	1000 нг/мл
ТТГ	< 0.0001	1000 нг/мл

Перехресна реактивність даного методу визначення Пролактину з вибраними речовинами вивчали додаванням інтерферуючих речовин до сироватки в різних концентраціях. Перехресна реактивність оцінювалася розрахунком відносної дози інтерферуючої речовини до дози Пролактину, необхідного для отримання тієї ж абсорбції.

VAST™ Пролактин

Речовина	Перехресна реактивність	Концентрація
ПРЛ	1.0000	-
ЛГ	< 0.0001	1000 нг/мл
ФСГ	< 0.0001	1000 нг/мл
ХГ	< 0.0001	1000 нг/мл
ТТГ	< 0.0001	1000 нг/мл
Гормон росту	< 0.0001	1000 нг/мл

Низька перехресна реактивність антитіл, використаних у цій системі, дозволяє використовувати калібратори VAST через їх нульову перехресну реактивність (ZCR).

Monobind, Inc.
100 North Pointe Drive
Lake Forest, CA 92630

Tel: 949.951.2665 Fax: 949.951.3539 www.monobind.com

УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул.Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

© Переклад на українську мову ТОВ «ДІАМЕБ»