



Набор ИФА для определения ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА

Каталог. № : FSH-96
Количество : 96
Производитель : Teco Diagnostics (США)

Методика от 06-11-2008

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения концентрации фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в сыворотке человека.

Только для диагностического использования *in vitro*.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

В настоящем наборе ИФА определенное количество анти- α моноклонального антитела ФСГ иммобилизуется на микротитрационных лунках. Определенное количество сыворотки пациента и стабильное количество второго анти- β антитела ФСГ, конъюгированного пероксидазой хрена, добавляются в лунки. После смешивания антиген ФСГ образца становится слоенным между твердой фазой фермент-меченным конъюгатом антител. После 60-минутной инкубации при комнатной температуре лунки промываются 5 раз деионизированной водой, чтобы удалить несвязанный конъюгат ФСГ. Затем добавляется раствор ТМБ и перекиси водорода и инкубируется при комнатной температуре в темноте 20 минут, приводя к образованию синего цвета. Развитие цвета останавливается добавлением стоп раствора, и абсорбция измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Интенсивность образовавшегося цвета прямо пропорциональна концентрации ФСГ в образцах.

РЕАГЕНТЫ

Поставляемые материалы:

1. Микротитрационные лунки, обработанные антителом ФСГ 96 лунок/набор.
2. Ферментный конъюгат ФСГ. Содержащий антитело ФСГ. Конъюгированное пероксидазой хрена, 13 мл.
3. Комплект референтных стандартов ФСГ: 0, 5, 15, 50, 100 и 200 мМЕ/мл. Лиофилизированные, 6 флаконов.
4. Раствор субстрата, содержащий ТМБ и перекись водорода в янтарной бутылке, 11 мл.
5. Стоп раствор (1 N HCl), 11 мл.

Требуемые, но не поставляемые материалы:

1. Точные пипетки: 50, 100, 200 мкл и 1,0 мл.
2. Дистиллированная или деионизированная вода.
3. Одноразовые наконечники для пипеток.
4. Микротитровальный планшетный считыватель с длиной волны 450 нм.
5. Промокательная бумага.
6. Секундомер или таймер.
7. Материалы контроля качества (напр., BioRad Lyphocheck).
8. Графопостроительная бумага.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

1. Настоящий набор содержит человеческую сыворотку. Не существует методик, дающих полную гарантию отсутствия вируса гепатита В, ВИЧ/ЛТКВ-III/ЛСВ, или других инфекционных агентов в реагентах набора. Поэтому, все продукты человеческой крови, включая образцы пациентов, должны рассматриваться как потенциально инфекционными. Обращение и уничтожение должно проводиться с соблюдением процедур, определенных соответствующими национальными указаниями и инструкциями относительно биологической безопасности.
2. Не использовать реагенты после истечения срока годности. и не смешивать или использовать компоненты наборов с другими номерами партии.
3. Немедленно закрывать реагенты. Не перепутывать колпачки.

4. Не пипетировать реагенты ртом.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Кровь должна быть собрана с использованием стандартной методики венепункции, а сыворотка должна быть отделена от красных кровяных телец как можно скорее.
2. Не использовать высоко липемические образцы.
3. Образцы сыворотки могут храниться до 5 дней при 2-8°C и должны замораживаться при -20°C при хранении до 1 месяца.
4. Избегать неоднократных циклов замораживания/размораживания.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАГЕНТОВ

1. Перед использованием позволить всем реагентам достичь комнатной температуры (18-25°C).
2. Растворить каждый лиофилизированный стандарт 1,0 мл деионизированной воды. Оставить растворенные материалы при комнатной температуре по крайней мере на 10 минут перед использованием. Растворенные стандарты следует хранить при 2-8°C и использовать в течение 14 дней. При необходимости длительного хранения жидкие стандарты должны быть заморожены при -20°C.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместить в держателе желаемое количество покрытых лунок, которые будут использоваться.
2. Пипеткой внести по 50 мкл каждого стандарта, контроля и образца в соответствующие лунки.
3. Внести по 100 мкл реагента конъюгата в каждую лунку. Тщательно перемешайте в течение 30 сек.
4. Инкубировать при комнатной температуре 60 мин.
5. Удалить содержимое лунок декантацией или аспирацией. При декантации промокнуть насухо планшет промокательной бумагой.
6. Раскапать 200 мкл деионизированной воды, декантировать или аспирировать. Повторить еще 4 раза. В общем количестве 5 промывок. Может использоваться автоматический ИФА-промыватель. По соответствующему применению см. инструкции производителя.
7. Раскапать по 100 мкл раствора субстрата в каждую лунку. Осторожно перемешать в течение 10 сек.
8. Инкубировать 20 минут при комнатной температуре в темноте без встряхивания.
9. Раскапать по 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку и осторожно перемешать в течение 10-20 сек. Важно убедиться в том, что синий цвет полностью изменился на желтый.
10. Измерить абсорбцию каждой лунки при 450 нм.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

1. Ручное пипетирование: Рекомендуется использовать не более 32 лунок в каждой процедуре анализа. Настоятельно рекомендуется использовать многоканальную пипетку.
2. Автоматическое пипетирование: может использоваться весь 96-луночный планшет в каждой процедуре анализа. Тем не менее, рекомендуется
3. Рекомендуется анализировать все стандарты, образцы и контроли в дубли.
4. Рекомендуется считать лунки в течение 15 минут после добавления стоп-раствора.

ИНСТРУМЕНТАРИЙ

ИФА-ридер с шириной дорожки 10 мм или меньше и диапазоном оптической плотности (ОП) 0-2 или больше при длине волны 450 нм подходит для измерения абсорбции.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Невскрытый набор для исследования должен храниться при 2-8°C после получения.
2. Открытый набор остается стабильным до истечения срока годности при соблюдении вышеуказанных условий хранения. Срок годности см. на упаковке.
3. микротитрационный планшет должен храниться в герметичном пакете с осушителем. Чтобы минимизировать влияние влажного воздуха.

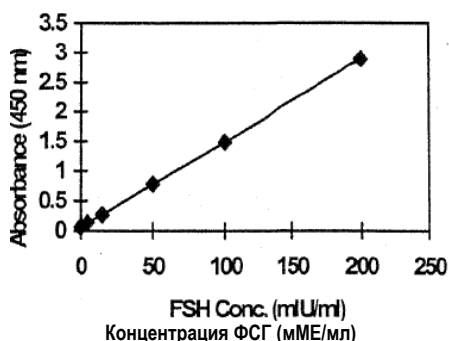
РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Вычислите значение средней абсорбции (A_{450}) из комплекта дублей стандартов, контролей и образцов.
2. Постройте стандартную кривую откладывая среднюю абсорбцию полученную для каждого референтного стандарта против его концентрации в мМЕ/мл на линейной графической бумаге при значении абсорбции на оси У и концентрации на оси Х.
3. Используя точку пересечения калибровочной кривой, определите соответствующую концентрацию ФСГ.
4. зависимости от возможностей компьютера, возможно применение других методик обработки данных.

ПРИМЕР КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичной процедуры калибровки указаны ниже:

Стандарты ФСГ (мМЕ/мл)	(A_{450})
0	0,051
5	0,089
15	0,212
50	0,780
100	1,732
200	3,039



Вышеуказанные данные представлены только в демонстрационных целях и **не должны** использоваться для расчета неизвестных значений. каждая лаборатория должна установить для каждого анализа свои собственные данные и калибровочную кривую.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Результаты, полученные от использования этого набора должны использоваться только как дополнение к другим диагностическим процедурам и информации, располагаемой врачом.
2. Достоверные и воспроизводимые результаты будут получены, когда процедура анализа выполнена с полным пониманием указаний вкладыша набора и при соблюдении квалифицированной лабораторной практики.
3. Процедура промывки крайне важна. Недостаточная промывка приведет к неполной точности и ошибочно повышенным считываниям абсорбции.
4. Референтные стандарты могут в некоторой степени варьировать в зависимости от партии из-за производственного процесса.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Квалифицированная лабораторная практика требует, чтобы контроли использовались в каждой калибровочной кривой. Статистически важное количество контролей должно анализироваться, чтобы установить средние значения и приемлемые диапазоны для обеспечения надлежащей эффективности набора. Рекомендуется использовать в процедуре по крайней мере два уровня контроля качества.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

1. исходя из выборочных образцов пациентов средние значения ФСГ в мужчин (к-во=100) и женщин (к-во=150) составляют 11 и 12 мМЕ/мл соответственно.
2. Чувствительность настоящего набора определена как самая низкая концентрация ФСГ от 0 мМЕ/мл. рассчитана от 95% доверительных интервалов абсорбции нулевого стандарта. Чувствительность этого анализа составила 2,5 мМЕ/мл.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com

