

## ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

Набір реагентів для кількісного імуноферментного визначення лютеїнізуючого гормону (ЛГ–БЕСТ)

### 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір реагентів «ЛГ–БЕСТ» призначений для кількісного *in vitro* визначення концентрації лютеїнізуючого гормону (ЛГ) у сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу. Набір «ЛГ–БЕСТ» рекомендований для проведення аналізу в дублікатах 40 невідомих, 6 калібрувальних проб, однієї проби контрольної сироватки й однієї проби для визначення оптичної густини розчину тетраметилбензидину (ТМБ) при використанні всіх стрипів одночасно. У випадку дробового застосування необхідна обов'язкова постановка всіх каліброваних проб для кожного окремого аналізу.

### 2. СКЛАД НАБОРУ

**Планшет** - полістирольний, з іммобілізованими моноклональними антитілами до ЛГ **1 упаковка**.

**Кон'югат** – анти - ЛГ - пероксидаза **1 флакон**

**Калібрувальні проби (КП):**

**комплект**

**КП№1**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 0 мМО/мл ЛГ,

**КП№2**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 2 мМО/мл ЛГ,

**КП№3**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 5 мМО/мл ЛГ,

**КП№4**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 25 мМО/мл ЛГ,

**КП№5**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 50 мМО/мл ЛГ,

**КП№6**- 1 флакон, 0,5 мл, містить 200 мМО/мл ЛГ,

**КС (контрольна сироватка)** містить відому кількість ЛГ, діапазон концентрацій зазначений на етикетці флакону. **1 флакон**

**Промиваючий розчин**

**1 флакон**

**ТМБ (Розчин тетраметилбензидина)**

**1 флакон**

**СР (Стоп-реагент)**

**1 флакон**

### 3. АНАЛІТИЧНІ Й ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ.

**3.1. Чутливість.** Мінімальна достовірно обумовлена набором концентрація ЛГ в аналізованому зразку не перевищує 0,25 мМО / мл.

**3.2. Специфічність.** Не виявлено перехресної реакції моноклональних антитіл до  $\beta$  - субодиниці ЛГ з хоріонічним гонадотропіном , фоллікулостимулюючим і тиреотропним гормонами.

**3.3. Діапазон очікуваних значень.** В нормі у дорослих чоловіків 0,8 – 8,3 мМО/мл, жінки: фолікулінова фаза МЦ 1,1 – 8,8 мМО/мл, овулярна фаза МЦ 13,3 – 73 мМО/мл, лютеїнова фаза МЦ 0,9 – 14,4 мМО/мл, постменопауза 18,6 – 72 мМО/мл.

### 4. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ.

При роботі з досліджувальними сироватками і контрольними зразками слід дотримуватись заходів безпеки, прийняті при роботі з потенційно інфекційним матеріалом: працювати в гумових рукавичках; не пікетувати розчини ротом; всі використані матеріали дезінфікувати відповідно до вимог чинного законодавства.

### 5. ОБЛАДНАННЯ Й МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ ПРИ РОБОТІ З НАБОРОМ:

Одно- Фотометр вертикального сканування, шейкер – інкубатор, вошер, центрифуга лабораторна на 2,5- 3,0 тис. об / хв., холодильник побутовий, піпетки напівавтоматичні одно каналні і багатоканальні рукавички гумові хірургічні, колба мірна, папір фільтрувальний, вода дистильована.

### 6. АНАЛІЗОВАНІ ЗРАЗКИ.

**6.1.** Узяття крові для аналізу слід проводити з використанням стандартних процедур для венозної крові, а зразки сироватки повинні бути звільнені від клітин крові центрифугуванням. Після центрифугування сироватка крові повинна бути перенесена в окрему пробірку.

**6.2.** Слід уникати використання в аналізі плазми крові, гемолізованої, мутної або гіперліпемічної сироватки. Не допускається використання як консервант азиду натрію.

**6.3.** Зразки сироватки крові слід використати протягом 24 годин з моменту отримання за умови їх зберігання при +2...8°C. Для більш тривалого зберігання зразки необхідно заморозити при температурі нижче -20°C. Уникати повторного заморожування зразків.

### 7. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ.

#### 7.1. Підготовка реагентів

**7.1.1.** Стрипи . Перед розкриттям пакет зі стрипами необхідно витримати при кімнатній температурі ( +18 ... 25 ° С ) не менше 30 хвилин. Розкрити пакет і переставити на вільну рамку необхідну кількість стрипів . Залишок упакувати у фольгований пакет та зберігати до кінця терміну придатності при +2...8°C.

**7.1.2.** Рідкі калібрувальні проби і контрольна сироватка готові до використання. Для відновлення ліофілізованих калібрувальних проб та контрольної сироватки перед розкриттям флаконів легким постукуванням струсити частинки , які прилипли до стінок флаконів або до кришок . Відкрити флакони і

покласти кришки перевернутими на суху поверхню. У кожний флакон з калібрувальної пробій та контрольної сироваткою внести по 0,5 мл дистильованої води і закрити кришками. Витримати флакони протягом 10 хвилин при кімнатній температурі без перемішування. Потім, акуратно нахилиючи і обертаючи флакони, перемішати їх вміст до повного розчинення, уникаючи піноутворення. Протягом наступних 10 хвилин витримати флакони при кімнатній температурі, періодично перемішуючи.

**7.1.3.** Кон'югат готовий до використання. Витрата кон'югату на один стрип становить 1,15 мл.

**7.1.4.** Розчин для промивання. Необхідна кількість промиваючого розчину розвести дистильованою водою в 20 разів.

**Наприклад:**

5 мл промиваючого розчину 95 мл дистильованої води. Ретельно перемішати, уникаючи піноутворення.

**7.1.5.** Розчин тетраметілбензідіна (ТМБ) готовий до використання. Витрата ТМБ на один стрип становить 1,15 мл.

**7.1.6.** Стоп - реагент готовий до використання. Витрата стоп-реагенту на один стрип становить 1,15 мл.

**7.1.7.** Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути ретельно перемішані і доведені до кімнатної температури (+18 ... 25 °С).

## **7.2. Постановка аналізу**

**7.2.1.** Скласти протокол маркування лунок. Лунки промаркувати наступним чином:

A1, A2 - № 1 - для вимірювання величини оптичної густини ті розчину ТМБ;

B1, B2 - № 2 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 1;

C1, C2 - № 3 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 2;

D1, D2 - № 4 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 3;

E1, E2 - № 5 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 4;

F1, F2 - № 6 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 5;

G1, G2 - № 7 - для вимірювання величини оптичної густини КП № 6;

H1, H2 - № 8 - для вимірювання величини оптичної густини і контрольної сироватки.

**7.2.2.** У всі лунки, крім лунок A1 і A2, внести по 100 мкл кон'югату.

**7.2.3.** Внести у відповідні лунки по 20 мкл калібрувальних проб та контрольної сироватки, в що залишилися лунки - по 20 мкл досліджуваної сироватки крові в дублікатах.

***Примітка:** загальний час внесення калібрувальних проб, контрольної сироватки і досліджуваних сироваток крові не повинен перевищувати 15 хвилин, інакше час інкубації різних зразків буде значно відрізнятися, що призведе до неправильних результатів.*

**7.2.4.** Інкубувати стрипи протягом 60 хвилин при струшуванні в термо-шейкері при температурі +37 °С зі швидкістю 500-800 об / хв. Або 90 хвилин при кімнатній температурі

**7.2.5.** По закінченні інкубації видалити вміст лунок в контейнер з дезінфікуючим розчином (1% розчином гіпохлориту натрію або 6% розчином перекису водню) і промити лунки п'ять разів. При кожній промивці в усі лунки додати по 300 мкл розчину для промивання, приготованого за п. 7.1.4., Струснути рамку на шейкері протягом 5-10 секунд з наступним декантуванням. Після останнього декантування ретельно видалити залишки рідини з лунок постукуванням рамки зі стрипами в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу.

Допускається промивка лунок за допомогою автоматичного промивання пристрою.

**7.2.6.** негайно внести в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубувати стрипи в темноті при кімнатній температурі (+18 ... 25°С) протягом 15 хвилин в залежності від ступеня розвитку забарвлення або 10 хвилин у термо-шейкері при температурі +37 °С зі швидкістю 500-800 об / хв.

**7.2.7.** Додати в усі лунки з тією ж швидкістю і в тій же послідовності, як і розчин ТМБ, по 100 мкл стоп-реагенту для зупинки ферментної реакції, перемішати на шейкері протягом 1-2 хвилин при кімнатній температурі (+18 ... 25°С).

**7.2.8.** Якщо неможливо виміряти оптичну густину у лунках планшета безпосередньо після виконання п. 7.2.7., То слід мати на увазі, що забарвлення в лунках планшета стабільна не більше 20 хвилин при кімнатній температурі.

***Примітка:** максимальна оптична густину не повинна перевищувати меж лінійного виміру спектрофотометра. Робочий діапазон спектрофотометра необхідно уточнювати в паспорті приладу. Рекомендована максимальна оптична густину не більше 2,5 од. ОП.*

## **8. РЕЄСТРАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ**

Виміряти на фотометрі вертикального сканування оптичну густину у лунках при довжині хвилі 450 нм.

При реєстрації результатів необхідно віднімати величину оптичної густини в лунках A1 і A2 з значень оптичної густини всіх інших лунок.

**Примітка:** середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках А1 і А2 не повинно перевищувати 0,09 од.ОП.

## 9. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

**9.1 .** Побудувати калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації ЛГ (мМО/мл) в калібрувальних пробах (Малюнок). Зовнішній вигляд графіка залежить від способу перетворення осей .

**Примітка:** для побудови калібрувального графіка на масштабній папері необхідно використовувати дані оптичної густини після вирахування з них середньої величини оптичної густини лунок з ТМБ .

Якщо програма фотометра не дозволяє віднімати величину оптичної густини лунок А1 і А2 , то необхідно користуватися формулою :

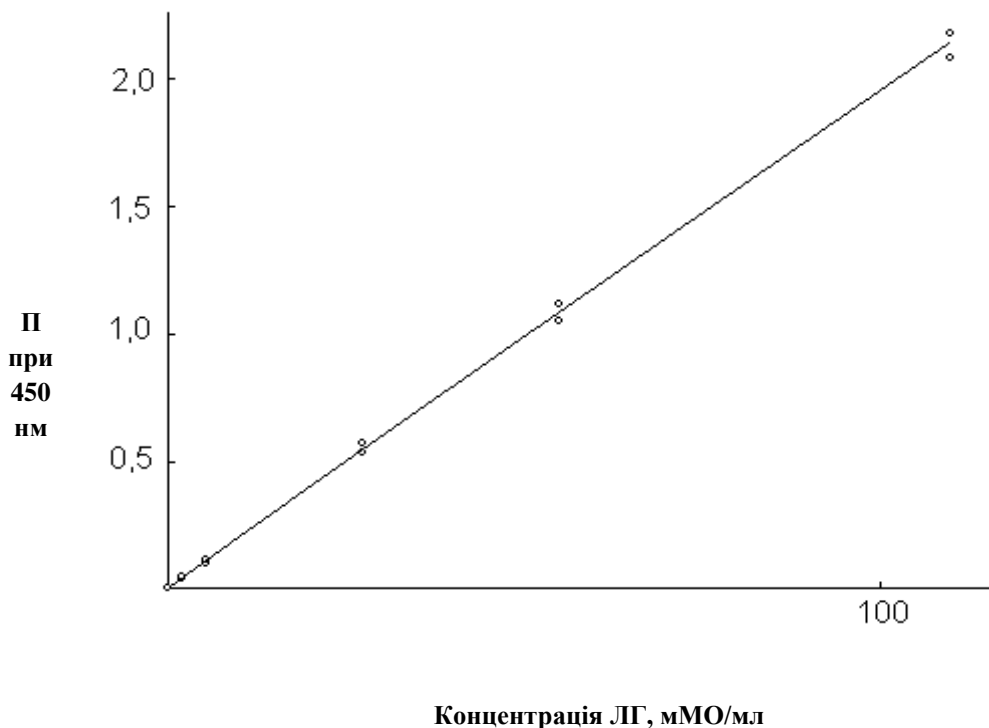
$V - VT$  ,

де  $V$  - середнє арифметичне значення оптичної густини в лунках , що містять калібрувальні або досліджувані проби ,

$VT$  - середнє арифметичне значення оптичної густини лунок А1 і А2.

**9.2 .** Визначити зміст ЛГ в пробах за калібрувальним графіком.

**9.3.** Екстраполяція калібрувального графіка для значень концентрації ЛГ , що перевищують номінал КП № 6 , не допускається. За наявності таких випадків приймати значення концентрації досліджуваного зразка « вище концентрації КП № 6».



## 10 . УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

Набори зберігати і транспортувати при +2...8°C. Допускається транспортування при температурі до 25°C не більше 5 діб. Промиваючий розчин підготовлений до використання зберігати не більше 30 діб.

**Не допускати заморожування!**

Термін придатності набору реагентів – 14 місяців з дня випуску.

З питань, що стосуються якості набору, звертатися: в **ТОВ «Бест Діагностик»** за адресою:

04074, м. Київ-74, вул.Лугова, 9, тел./факс: (044) 500-57-11 E-mail: [info@bestdiagnostic.com.ua](mailto:info@bestdiagnostic.com.ua)

Виробник залишає за собою право вразі вдосконалення набору вносити зміни до інструкції.