

СР	7041/2007
	11.10.2012

Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.

Інструкція
з використання тест-системи для визначення
лютеотропного гормону в сироватці крові
ЛГ - ІФА

IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип двосайтового імуноферментного аналізу (сендвіч-метод). У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-ЛГ-антитіла) вносять досліджуваний зразок і кон'югат (другі анти-ЛГ-антитіла, мічені пероксидазою). ЛГ із зразка зв'язується з антигеном на поверхні лунки та кон'югатом. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату та вимірюється при довжині хвилі 450 нм.

Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості ЛГ у зразку.

Клінічне значення

ЛГ (лютеїнізуючий гормон, лютропін) - глікопротеїдний гонадотропний гормон. Синтезується базофільними клітинами передньої долі гіпофіза під впливом релізинг-факторів гіпоталамуса. У жінок досягнення критичного рівня ЛГ призводить до овуляції, формування жовтого тіла та стимулює синтез прогестерону в жовтому тілі. У чоловіків підвищує проникність сім'яних каналців для тестостерону, що сприяє дозріванню сперматозоїдів. Виділення гормону носить пульсуючий характер і у жінок залежить від фази овуляційного циклу. У пубертатному періоді рівень ЛГ підвищується, наближаючись до значень, характерним для дорослих. У менструальному циклі у жінок пік концентрації ЛГ припадає на овуляцію, після якої рівень гормону падає і тримається всю лютеїнову фазу на більш низьких, ніж у фолікулярній фазі, значеннях. Під час вагітності концентрація знижується. У період постменопаузи відбувається підвищення концентрації ЛГ, як і ФСГ (фолікулостимулюючого гормону). У жінок концентрація ЛГ у крові максимальна в проміжок від 12 до 24 годин перед овуляцією і утримується протягом усього дня, досягаючи концентрації в 10 разів більшою у порівнянні з неовуляційним періодом. Важливе співвідношення ЛГ/ФСГ. У нормі до менархе воно дорівнює 1; після року менархе - від 1 до 1,5; в періоді від двох років після настання менархе і до менопаузи - від 1,5 до 2.

Високий рівень гормону виявляють при аденомі гіпофіза, первинній дисфункції статевих залоз, ендометріозі, при синдромі полікістозних яєчників, синдромі Тернера, голодуванні, спортивних тренуваннях, нирковій недостатності. Невелике підвищення рівня ЛГ може відбуватися при вживанні кломіфена.

Зниження концентрації ЛГ відбувається при порушенні функції гіпофіза чи гіпоталамуса, синдромі галактореї-аменореї, при ізольованому дефіциті гонадотропних гормонів, ожирінні, курінні, хірургічних втручаннях, стресі. Зниження рівня гормону відбувається також при вживанні оральних контрацептивів, прогестерона, синтетичних естрагенів.

Вміст ЛГ у крові як у жінок, так і в чоловіків залежить від добового ритму, в зв'язку з чим визначення рівня цього гормону повинне проводитися в один і той же самий час.

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір калібраторів та контролю по 0.5 мл, нульовий калібратор – 2 мл (всього 5 калібраторів: 0, 5, 25, 50, 100 МОд/л; 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 мл (1 фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 3 МОд/л.

Очікуванні коливання контролю: 9.5-13.5 МОд/л.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшета, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.
3. **УВАГА!** Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібровочної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи калібратор 0.

Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
3. Внесіть у лунки 50 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте **25-30** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти нульового калібратора.
10. Використовуйте кусково-лінійний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію ЛГ в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Примітка

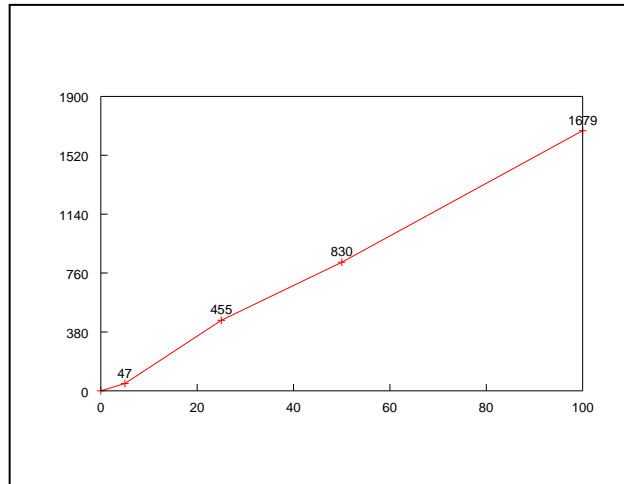
1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби та стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

(«замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, МОд/л; вісь Y – ОЩ)
Не використовувати для обчислювання!



Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Стать, вік	Одиниці, МОд/л	
	Нижня межа	Верхня межа
Діти до 11 років	1	5
Чоловіки	1.5	9
Жінки: фолікулярна фаза	2	9.5
овуляція	10	45
лютеїнові фаза	0.5	17
менопауза	5	57

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°C. Не допускається замороження!

Після розкриття пакета **ретельно заклейте** лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61050, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт
Тест-система для визначення
лютеотропного гормону в сироватці крові
ЛГ - ІФА

IN VITRO

Серія **683-3**

Дата виготовлення **12.11.2012**

Термін придатності **12.05.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	Чутливість не менш, МОд/л	3		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, МОд/л	9.5-13.5		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Набір калібраторів та контролю (всього 5 калібраторів: 0, 5, 25, 50, 100 МОд/л; 1 контроль)	червоний	1 фл. х 2 мл 5 фл. х 0.5 мл	відповідає
2.4	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. х 22 мл	відповідає
2.5	Кон'югат	червоний	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.6	Субстрат	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.7	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002