

**THYROID STIMULATING HORMONE - TSH  
TCX**
**ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО  
ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА ТСХ (TSH) В СЕРУМ.**
**ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Концентрацията на TSH е право пропорционална на наситеността на получения при реакцията цвят на пробата. Абсорбцията се измерва спектрофотометрично при 450 nm.

**РЕАГЕНТИ**

1. Mouse Monoclonal Anti-TSH
2. Reference Standards: 0, 0.5, 2, 5, 10 and 25  $\mu\text{U/ml}$  лиофилизирани
3. Enzyme Conjugate Reagent, 13 ml
4. TMB Reagent (готов), 11ml
5. Stop Solution (1N HCl), 11 ml.

**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. Избягвайте силно хемолитични, липемични или мътни проби.

Пробите трябва да се съхраняват в затворени контейнери и при 2-8 °C до 48 часа преди изследването. За по-дълги периоди на съхранение е необходимо еднократно замразяване при -20 °C. Веднъж размразени пробите трябва да се размесят с обръщане нагоре-надолу няколко пъти преди тестване.

**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 ереактива, ако шишенцето е пукнато или повредено.
5. Веднага поставйте 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.

**ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ**

1. Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура преди употреба. Завъртете леко шишенцата за да се размесят. Не предизвиквайте разпенване.
2. 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.
3. Проби с очакване концентрация на TSH над 25 $\mu\text{U/ml}$  трябва да се разреждат 1:10 със серум, който не съдържа TSH (нулев калибратор).

**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.
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 желаните брой ямки в носача.
2. Пипетирайте 100 $\mu\text{l}$  от стандартите, пробите и контролите в съответните ямки.
3. Пипетирайте 100 $\mu\text{l}$  от Enzyme Conjugate Reagent във всяка ямка.
4. Разбъркайте добре в продължение на 30 секунди. Доброто размесване е много важно.
5. Инкубирайте при стайна температура (18-25°C) 60 минути.
6. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с ямките в контейнер за отпадъци.
7. Измийте ямките с дейонизирана или дестилирана вода 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате ямките.
8. Изтупайте рязко ямките върху попиваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
9. Добавете 100 $\mu\text{l}$  от TMB реагента във всяка ямка. Леко разбъркайте 5 секунди.
10. Инкубирайте при стайна температура 20 минути.
11. Спрете реакцията като добавите 100 $\mu\text{l}$  Stop Solution (1N HCl) във всяка ямка.
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.

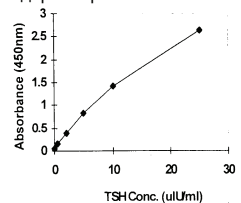
**ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

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  $\mu\text{U/ml}$  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.

TSH ( $\mu\text{U/ml}$ )	Абсорбция (450nm)
0	0.063
0.5	0.157
2	0.398
5	0.818
10	1.415
25	2.645


**ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА**

1.44 (0.3 – 8.1)  $\mu\text{U/ml}$ .

Минималната концентрация, която настоящият тест може да открие е 0.2  $\mu\text{U/ml}$ .

**РЕФЕРЕНТНИ ОБХВАТИ**

	TSH $\mu\text{U/ml}$	
Възрастни	21-54 години 55-87 години	0.4-4.2 0.5-8.9
Бременност	I триместър II триместър III триместър	0.3-4.5 0.5-4.6 0.8-5.2

**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. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
4. 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.
5. Този тест не е използван при новородени и следователно не може да се използва за новородени.

Re:030104

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