

ผลการทดลอง

1. ผล Iodination LH ด้วย ^{125}I และการทำ $^{125}\text{I-LH}$ ให้บริสุทธิ์ครั้งที่ 1
 ทำการทดลองตามวิธีข้อ 4.23

คำนวณ specific activity ได้ = 130-170 ไมโครคิวรีต่อ

ไมโครกรัม

peak ของ $^{125}\text{I-LH}$ จะอยู่ประมาณหลอดที่ 5 นำหลอดที่อยู่หลัง peak
 คือหลอดที่ 6 มาใช้ในการทดลองตลอดกรายงานนี้ เพราะหลอดหลัง peak นี้มีความ
 บริสุทธิ์สูง ค่า non-specific binding ต่ำ และ specific binding สูง
 ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องการใน radioimmunoassay

ปริมาณ $^{125}\text{I-LH}$ ที่ใช้ในการทดลอง = 100 พิโคกรัม/0.05 มล.

โดยคำนวณตามวิธีในข้อ 7

ผลการทดลองทำ $^{125}\text{I-LH}$ ให้บริสุทธิ์ครั้งที่ 1 แสดงไว้ในรูปที่ 2

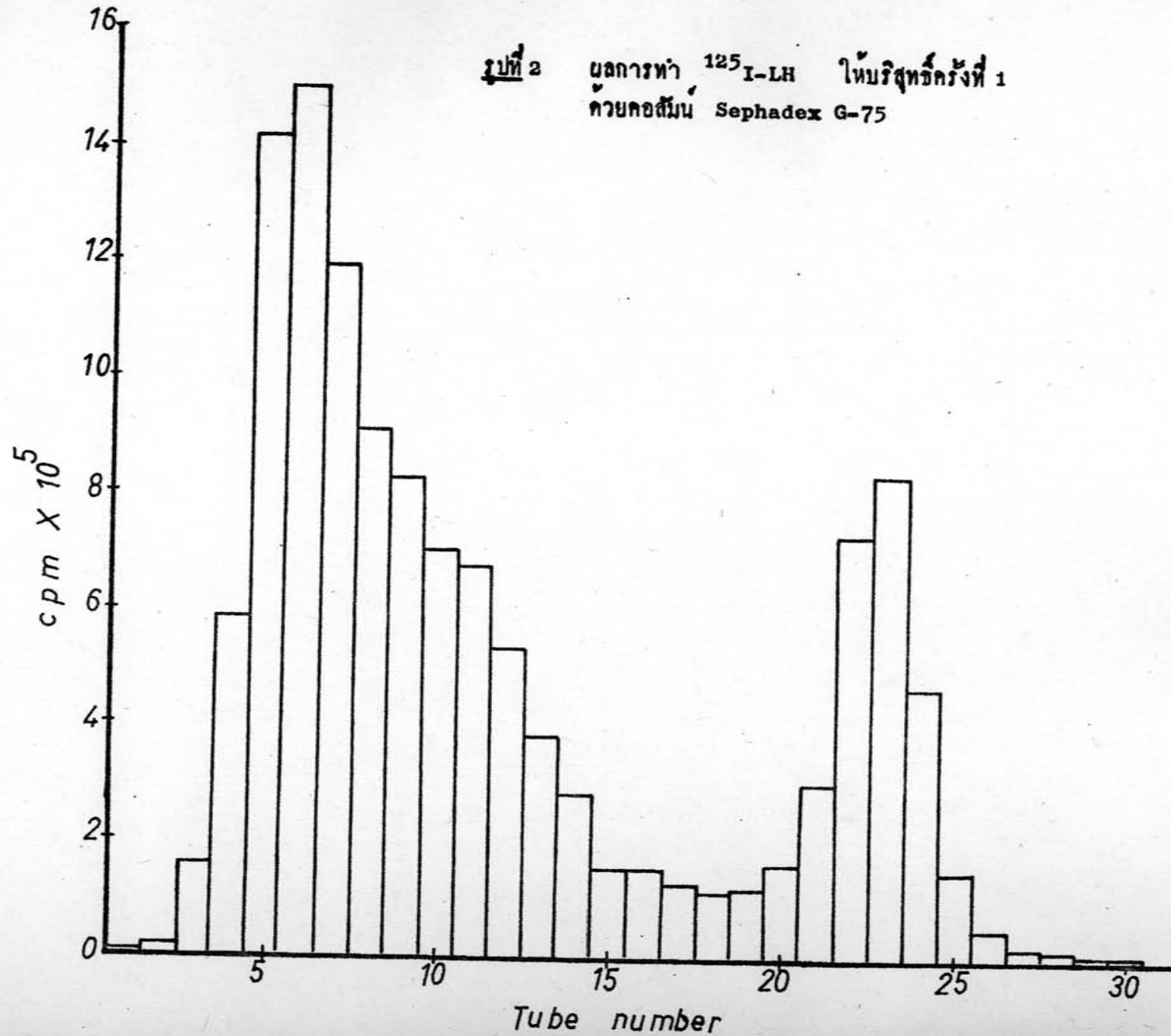
2. ผลการทำ $^{125}\text{I-LH}$ ให้บริสุทธิ์ครั้งที่ 2

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 4.23 หลังจาก iodination แล้วประมาณ
 2 สัปดาห์ แยกต่างกันใน ขนาดของคอลัมน์เป็น 1x60 ซม. อัตราการไหล 0.25
 มล./นาที equilibrate และ elute ด้วย 0.5% BSA buffer ข้อ 4.8
 เก็บส่วนที่ออกมาหลอดที่หนึ่ง 15 มล. (void volume) หลอดที่ 2-40 เก็บ
 หลอดละ 0.75 มล. ในหลอดที่มี 0.5% BSA buffer ข้อ 4.8 อยู่หลอดละ 0.25
 มล. นำ 100 ไมโครลิตรของทุกหลอดไปวัดรังสี และคำนวณปริมาณ LH ที่ใช้
 ในการทดลองตามวิธีในข้อ 8

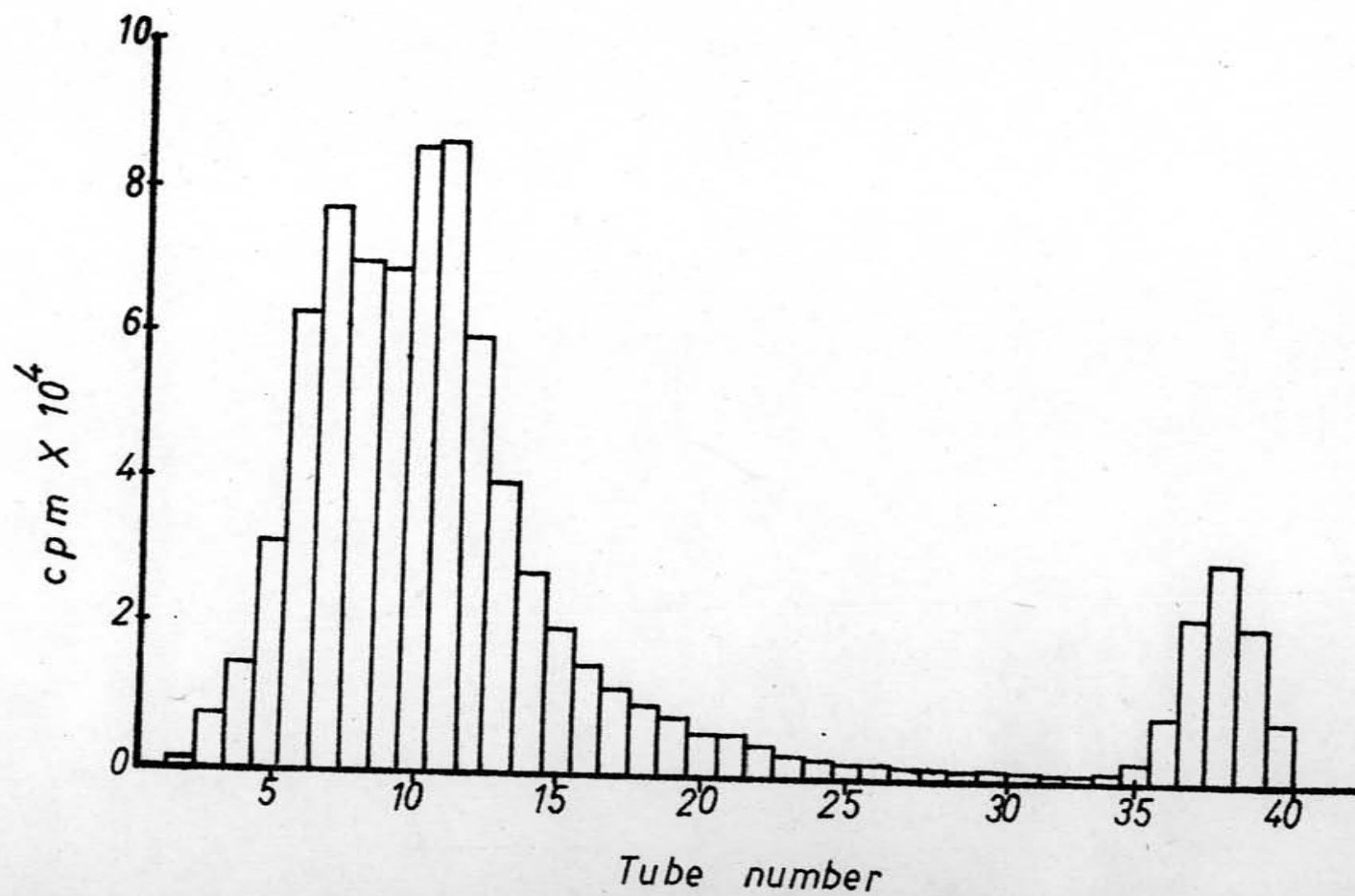
จากการทดลองด้วยวิธีนี้ทำให้ใช้ $^{125}\text{I-LH}$ ได้นานกว่า 2 เดือน

ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 3

รูปที่ 2 ผลการทำ $^{125}\text{I-LH}$ ให้บริสุทธิ์ครั้งที่ 1
ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-75



รูปที่ 3 ผลการทำ ^{125}I -LH ให้อยู่รูปที่ 2 ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-75





3. ผลการทดลอง buffer สามชนิดที่ pH ต่างๆ

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 5.2 ก. เทคนิคการแยกด้วยผงถ่าน โดยเลือกใช้ IH มาตรฐานความเข้มข้น 0 และ 40 นาโนกรัม/0.1 มล. ทำชุดที่หนึ่ง ส่วนชุดที่ 2 และ 3 ใช้ IH มาตรฐานความเข้มข้น 0 และ 25 นาโนกรัม/0.1 มล.

ชุดที่ 1 ใช้ phosphate buffer มี pH ต่างๆกันตามข้อ 4.20

ชุดที่ 2 ใช้ borate buffer มี pH ต่างๆกันตามข้อ 4.22

ชุดที่ 3 ใช้ barbitone sodium buffer มี pH ต่างๆกันตามข้อ 4.21

	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2 และ 3
สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	ไม่สมบูรณ์	สมบูรณ์
$^{125}\text{I} - \text{IH}$	5000 cpm/0.1 มล.	5000 cpm/0.1 มล.
ความเข้มข้นของแอนติบอดี	1 : 40,000	1 : 80,000
อุณหภูมิและเวลาที่ใช้- อินทิวเบท	37°ซ 2 ชม. และที่ 4°ซ 1 วัน	4°ซ 4 วัน
สารดูดซับ	ผงถ่าน 8% เคลือบด้วย เคกซ์เตรน T150 0.5% ใน buffer ข้อ 4.17	ผงถ่าน 5% เคลือบด้วย เคกซ์เตรน T150 0.5% ใน buffer ข้อ 4.17

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 1 ก, ข และ ค เขียนกราฟระหว่าง (B-C)% กับ pH ไว้ในรูปที่ 4

ผลที่ได้ไม่สามารถบอกได้แน่นอนว่า buffer ชนิดไหนดีกว่า จึงอาจสรุปได้ว่าการใช้ buffer ต่างชนิดกันจะไม่ทำให้ปฏิกิริยาแตกต่างกัน การทดลองทดลองรายงานนี้ใช้ phosphate buffer pH 7.5

ตารางที่ 1ก. (B-C)% เมื่อเปลี่ยนค่า pH ของ phosphate buffer

LH (นาโนกรัม/0.1 มล.)	pH	B %	(B-C) %
Control (C) 0 40	6	13.73*	7.65 8.10 2.04 1.94
		21.38	
		21.83	
		15.77 15.67	
Control 0 40	6.5	13.32*	9.21 9.61 3.67 2.26
		22.53	
		22.92	
		16.99 15.58	
Control 0 40	7	13.04*	10.70 10.57 3.54 3.40
		23.74	
		23.61	
		16.58 16.44	
Control 0 40	7.5	13.48*	9.03 9.17 3.42 3.06
		22.52	
		22.66	
		16.91 16.55	
Control 0 40	8	14.04*	9.62 9.63 2.72 2.83
		23.66	
		23.68	
		16.76 16.87	
Control 0 40	8.5	13.69*	9.76 9.48 3.76 3.90
		23.45	
		23.17	
		17.46 17.59	

* = ค่าเฉลี่ย
 ก = $^{125}\text{I-LH}$ ส่วนที่ทำปฏิกิริยา
 ข = non-specific binding

ตารางที่ 1 ข. (B-C)% เมื่อเปลี่ยนค่า pH ของ borate buffer

LH (นาโนกรัม/0.1มล.)	pH	B%	(B-C)%
Control	7	11.47*	
		28.81	17.35
0	7	28.89	17.42
25	7	17.39	5.93
		17.37	5.9
Control	8	10.39*	
		28.22	17.83
0	8	27.90	17.52
25	8	17.01	6.62
		17.21	6.82
Control	9	14.54*	
		32.05	17.5
0	9	32.01	17.47
25	9	19.54	4.99
		19.55	5.01
Control	9.5	15.82*	
		31.89	16.07
0	9.5	32.00	16.17
25	9.5	21.35	5.53
		20.94	5.11

ตารางที่ 1 ค. (B-C)% เมื่อเปลี่ยนค่า pH ของ barbitone sodium buffer

LH (นาโนกรัม/0.1มล.)	pH	B%	(B-C)%
Control	7	10.59*	
		25.56	14.97
0	7	25.50	14.9
25	7	16.86	6.27
		16.91	6.32
Control	8	10.13*	
		26.87	16.74
0	8	26.85	16.72
25	8	18.27	8.14
		18.03	7.9
Control	9	9.74*	
		25.51	15.77
0	9	25.86	16.12
25	9	17.75	8.01
		16.73	6.99
Control	10	9.39*	
		24.39	14.99
0	10	25.10	15.71
25	10	16.29	6.91
		15.98	6.59

รูปที่ 4 ผลของการใช้ buffer ต่างชนิดกันที่ pH ต่างๆ

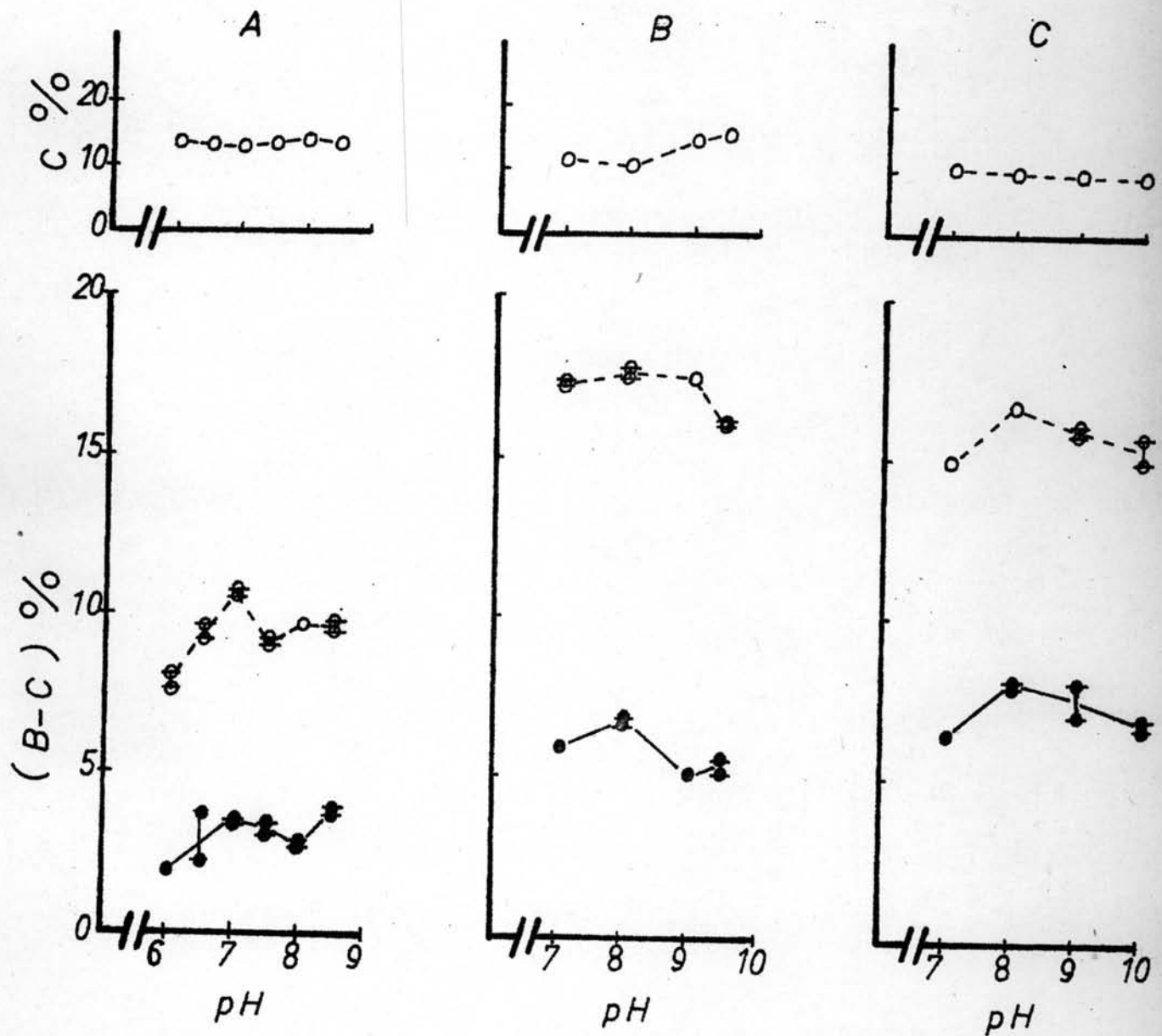
A Phosphate buffer

B Borate buffer

C Barbitone sodium buffer

○---○ ใส่ 0 นาโนกรัม LHมาตรฐาน

●---● ใส่ 25 นาโนกรัม LHมาตรฐาน





4. ผลการทดลอง antibody titration

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 5.2 ก โดยเลือกใช้ LH มาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 25 และ 50 นาโนกรัม / 0.05 มล. ^{125}I -LH ที่ทำให้บริสุทธิ์ครั้งที่ 2 ความเข้มข้นของแอนติบอดีในแต่ละหลอดทดลองคือ 1 : 10,000 ; 1 : 20,000 ; 1 : 40,000 ; 1 : 80,000 และ 1 : 160,000 อินคิวเบทที่ 10°C 1 วัน และที่ 4°C อีก 1 วัน

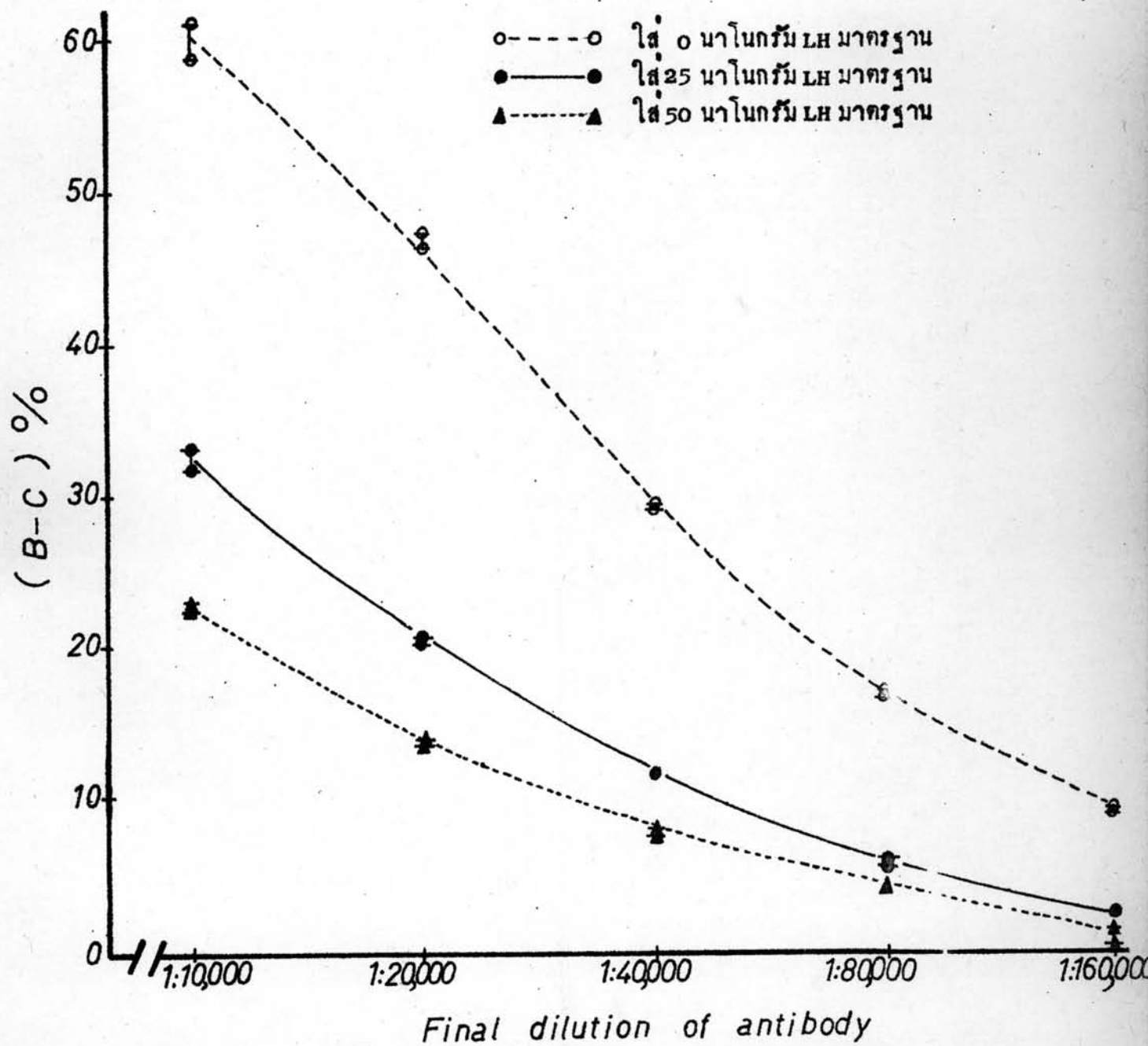
ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 2 เขียนกราฟระหว่าง (B-C)% กับความเข้มข้นของแอนติบอดีไว้ในรูปที่ 5

จากการทดลองพบว่า เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีในหลอดทดลองมากขึ้นจะสามารถรวมกับ LH มาตรฐานและ ^{125}I -LH ได้มากขึ้น ดังนั้น B% จะสูงขึ้นตามลำดับ การที่จะเลือกใช้ความเข้มข้นของ แอนติบอดีเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับว่าควรจะใช้ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด ที่จะได้กราฟมาตรฐานที่เหมาะสมในการหาปริมาณ LH ในสารตัวอย่างที่ต้องการได้ ในที่นี้เลือกใช้ความเข้มข้นของแอนติบอดีในหลอดทดลอง 1 : 40,000

ตารางที่ 2 (B-C)% เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของแอนติบอดีในหลอดทดลอง

LH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	ความเข้มข้นของ แอนติบอดี	B%	(B-C)%
Control 0 25 50	1:160,000	12.72*	
		21.99 21.77	9.26 9.05
		15.34 15.32	2.62 2.59
0 25 50	1:80,000	29.69 29.76	16.69 17.04
		18.64 18.59	5.92 5.87
		16.88 16.85	4.15 4.13
0 25 50	1:40,000	41.91 42.04	29.19 29.31
		24.30 24.27	11.58 11.55
		20.03 20.76	7.31 8.07
0 25 50	1:20,000	60.00 58.97	47.27 46.25
		32.92 32.81	20.20 20.09
		26.41 26.52	13.69 13.80
0 25 50	1:10,000	73.74 71.58	61.02 58.85
		45.92 44.65	33.20 31.92
		35.29 35.65	22.56 22.93

รูปที่ 5 กราฟแสดง antibody titration



5. ผลการทดลองเมื่อเปลี่ยนค่าเวลาและอุณหภูมิในการอินคิวเบท

ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 5.2 ก. ทดลองกับ IH มาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 25 และ 50 นาโนกรัม/0.05 มล. ทำเป็น 3 ชุด คืออินคิวเบทที่ 4°C, 18°C และ 37°C แต่ละชุดแบ่งเป็นชุดย่อยอีก 8 ชุด เพื่อแปรค่าเวลาที่ใช้อินคิวเบทตั้งแต่ 2, 4, 8, 22, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 3ก, ข และ ค เขียนกราฟระหว่าง (B-C)% กับ เวลา ไว้ในรูปที่ 6

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า

1. การอินคิวเบทที่ 4°C เป็นเวลาถึง 5 วัน ค่า nonspecific binding เพิ่มขึ้นน้อยกว่าการอินคิวเบทที่ 18°C และ 37°C

ค่า non-specific binding ที่ 4°C ตั้งแต่ 2-120 ชม. อยู่ระหว่าง 15-20% ที่ 18°C อยู่ระหว่าง 15-25% ส่วนที่ 37°C อยู่ระหว่าง 15-33% เมื่อใช้เวลาเพียง 48 ชม. เท่านั้น

2. ผลการอินคิวเบทที่ 4°C และ 18°C คล้ายกัน ส่วนที่ 37°C ผลการทดลองไม่สามารถนำมาใช้ได้ เนื่องจากอุณหภูมิอาจสูงเกินไป ไม่เหมาะสมกับปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน และแอนติบอดีของ IH

เลือกใช้อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 4 วัน เนื่องจากควบคุมอุณหภูมิได้ง่าย

ตารางที่ 3 ก. (B-C)% เมื่อใช้เวลาต่างๆกันในการอินคิวเบตที่ 4 °ซ

IH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	เวลา (ชม.)	B%	(B-C)%
Control	2	15.20*	
0		25.46 25.72	10.25 10.52
25		23.76 24.49	8.56 9.28
50		19.96 20.34	4.76 5.14
Control	4	13.71*	
0		29.04 29.21	15.34 15.50
25		24.97 24.38	11.26 10.67
50		20.19 19.51	6.48 5.80
Control	8	15.30*	
0		32.80 32.92	17.50 17.62
25		24.69 24.48	9.38 9.18
50		20.54 21.05	5.24 5.75
Control	22	15.18*	
0		37.56 37.86	22.38 22.68
25		27.32 26.42	12.14 11.24
50		22.61 22.82	7.43 7.64

LH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	เวลา (ชม.)	B%	(B-C)%
Control	48	17.34*	
0		41.36 41.19	24.03 23.85
25		29.81 31.49	12.47 14.16
50		26.00 25.59	8.66 8.26
Control	72	20.73*	
0		45.66 45.62	24.93 24.89
25		31.62 31.74	10.89 11.01
50		29.31 28.90	8.58 8.17
Control	96	19.59*	
0		46.56 45.63	26.97 26.04
25		31.88 31.79	12.29 12.20
50		26.45 28.06	6.86 8.47
Control	120	20.45*	
0		47.40 46.68	26.96 26.23
25		33.05 32.42	12.60 11.97
50		27.67 29.03	7.22 8.58

ตารางที่ 3 ข. (B-C)% เมื่อใช้เวลาต่างๆกันในการอินคิวเบตที่ 18°ซ

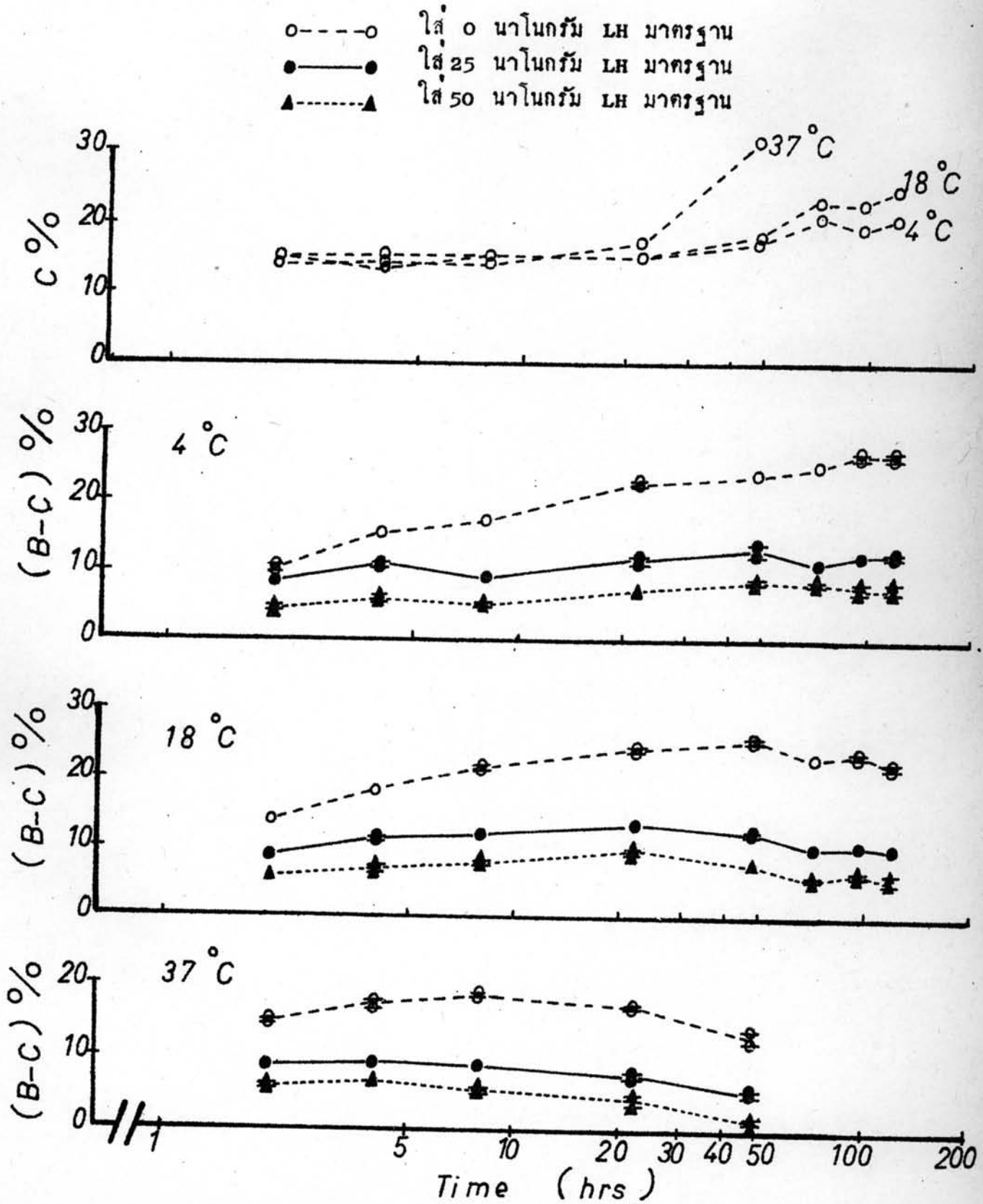
LH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	เวลา (ชม.)	B%	(B-C)%
Control	2	15.28*	
0		29.37 29.71	14.10 14.43
25		24.59 24.23	9.32 8.95
50		21.58 21.32	6.30 6.04
Control	4	15.74*	
0		34.33 34.43	18.59 18.69
25		26.82 27.19	11.08 11.45
50		22.30 23.42	6.56 7.69
Control	8	15.59*	
0		37.12 37.63	21.52 22.04
25		27.64 27.67	12.05 12.08
50		23.46 23.69	7.87 8.10
Control	22	15.17*	
0		39.50 39.79	24.33 24.63
25		28.65 28.49	13.48 13.32
50		25.12 24.92	9.96 9.75

LH (นาโนกรัม/0.05 นล.)	เวลา (ชม.)	B%	(B-C)%
Control	48	18.05*	
0		44.06 43.87	26.02 25.83
25		30.36 30.03	12.31 11.98
50		25.91 25.86	7.86 7.82
Control	72	23.38*	
0		46.30 46.36	22.91 22.97
25		33.43 33.26	10.04 9.88
50		28.89 29.26	5.50 5.88
Control	96	22.79*	
0		46.62 46.23	23.82 23.44
25		33.01 32.86	10.21 10.07
50		28.85 29.46	6.05 6.67
Control	120	25.14*	
0		47.00 47.39	21.86 22.24
25		35.10 35.04	9.96 9.89
50		30.07 31.40	4.92 6.26

ตารางที่ 3 ค. (B-C)% เมื่อใช้เวลาต่างๆกันในการอินคิวเมทที่ 37 °ซ

LH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	เวลา (ชม.)	B%	(B-C)%
Control 0 25 50	2	14.69*	
		30.30	15.61
		29.97	15.28
		23.73	9.04
		23.67	8.98
		20.74	6.05
21.12	6.43		
Control 0 25 50	4	14.77*	
		32.38	17.60
		32.96	18.19
		24.29	9.51
		24.28	9.50
		21.69	6.91
21.68	6.90		
Control 0 25 50	8	14.46*	
		33.59	19.14
		33.34	18.88
		23.42	8.96
		23.66	9.20
		20.14	5.68
20.58	6.12		
Control 0 25 50	22	17.19*	
		34.94	17.75
		34.59	17.39
		25.53	8.34
		24.42	7.23
		22.14	4.95
21.03	3.84		
Control 0 25 50	48	32.57*	
		45.18	12.61
		46.70	14.13
		38.32	5.75
		37.44	4.87
		34.40	1.83
33.41	0.84		

รูปที่ 6 ผลของเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา



6. ผลการทดลองเมื่อใช้ผงถ่านเคลือบด้วยแคชเชอแรนขนาดต่างๆ

ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 5.2 ก. โดยเลือกทดลองกับ IH มาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0 และ 50 นาโนกรัม/0.1 มล. แยกทำ 3 ชุด แต่ละหลอดเติม HFS 0.1 มล. , $^{125}\text{I-IH}$ ที่ทำให้มีวริสุทธ์ครั้งที่หนึ่ง 5000 cpm/0.1 มล. , ความเข้มข้นของแอนติบอดีในหลอดทดลอง (1:80,000) 0.1 มล. และ BSA-buffer ข้อ 4.6 0.1 มล. อินคิวเบทที่ 4°C เป็นเวลา 3 วัน แยกด้วยการใช้ผงถ่าน 5% เคลือบด้วยแคชเชอแรนขนาดต่างๆกันในแต่ละชุดคือ T 110, 150 และ 250 ความเข้มข้น 0.5% หลอดละ 0.5 มล.

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4 เขียนกราฟระหว่าง (B-C) % กับขนาดของแคชเชอแรนไว้ในรูปที่ 7

ผลการทดลองที่ได้ไม่แตกต่างกัน การทดลองตลอดรายงานนี้เลือกใช้แคชเชอแรน T 150

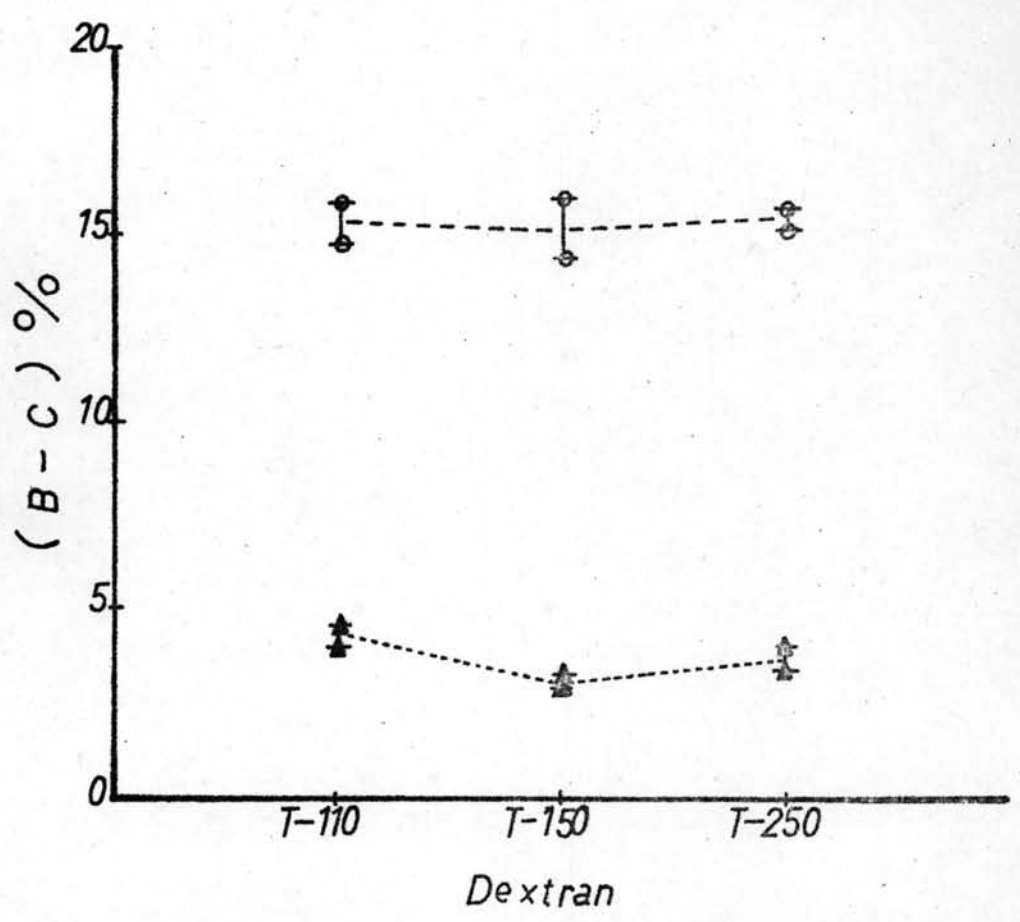
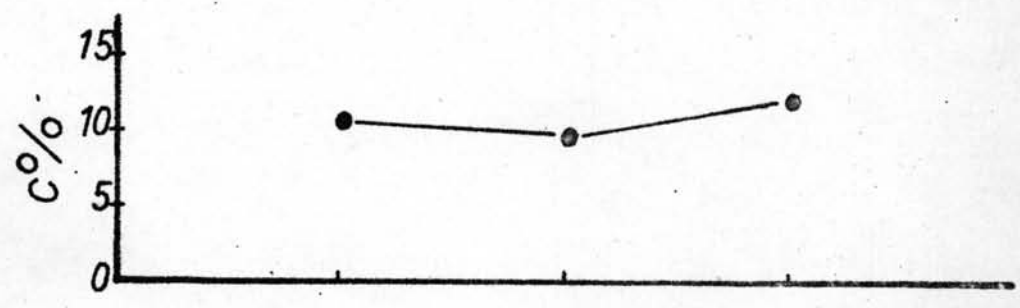
ตารางที่ 4 (B-C)% เมื่อใช้ผงถ่าน 5% เคลือบด้วยเคกซ์เตรน (T 110, 150 และ 250) 5%

LH (นาโนกรัม / 0.1 มล.)	ขนาดของ เคกซ์เตรน	B%	(B-C)%
Control	110	10.58*	
0		25.31 26.38	14.74 15.80
50		15.07 14.60	4.49 4.02
Control	150	9.62*	
0		23.92 25.59	14.29 15.97
50		12.56 12.85	2.94 3.23
Control	250	12.08*	
0		27.19 27.57	15.11 15.49
50		15.51 16.06	3.43 3.98

รูปที่ 7 ผลของขนาดอนุภาคโกลบูลินด้วยเทกซ์แทรนขนาดต่างๆ



●—● non-specific binding
 ○---○ ใส 0 นาโนกรัม LH มาตรฐาน
 ▲-----▲ ใส 50 นาโนกรัม LH มาตรฐาน



7. ผลการทดลองเมื่อเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของแอนติเจน T150 และผงถ่าน

การทดลองเรื่องนี้ทำเพื่อจะดู **non-specific binding** อย่างเดียวกันนั้นจึงไม่ได้ใส่แอนติบอดี เลือกใช้ความเข้มข้นของ LH มาตรฐาน 0 และ 40 นาโนกรัม/0.1 มล. ทำเป็น 4 ชุดเพื่อเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของผงถ่าน 2, 3, 4 และ 5% ในแต่ละชุดแยกเป็นชุดย่อย 4 ชุดเพื่อเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของแอนติเจน 0.0078, 0.0156, 0.03125 และ 0.0625% แต่ละหลอดใส่ HFS 0.1 มล., $^{125}\text{I-LH}$ ที่ทำให้บริสุทธิ์ครั้งที่หนึ่ง 100 พิโคกรัม/0.1 มล. buffer (ข้อ 4.6) 0.2 มล. อินคิวเบทที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

ชุดที่หนึ่ง	เติมผงถ่าน 2%	เคลือบด้วยแอนติเจน	(ข้อ 4.17) 0.5 มล.
ชุดที่สอง	เติมผงถ่าน 3%	เคลือบด้วยแอนติเจน	(ข้อ 4.17) 0.5 มล.
ชุดที่สาม	เติมผงถ่าน 4%	เคลือบด้วยแอนติเจน	(ข้อ 4.17) 0.5 มล.
ชุดที่สี่	เติมผงถ่าน 5%	เคลือบด้วยแอนติเจน	(ข้อ 4.17) 0.5 มล.

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 5 ก, ข, ค และ ง เขียนกราฟระหว่าง B% กับปริมาณของแอนติเจนไว้ในรูปที่ 8

จากการทดลองพบว่า

1. B% ของพวก **non-specific** จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอนติเจน และลดความเข้มข้นของผงถ่าน
2. แอนติเจนจะมีผลต่อ **non-specific binding** ต่อเมื่อผสมกับถ่านที่มีความเข้มข้นน้อย แต่ถ้าใช้ผงถ่านที่มีความเข้มข้น 5% ขึ้นไป แอนติเจนเกือบจะไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ **non-specific binding**

เลือกใช้ผงถ่าน 5% เคลือบด้วยแอนติเจน 0.03% แยก F ออกจาก B

ตารางที่ 5 ก. B% และค่าเฉลี่ยเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของ
 เกล็ดทราย T150 รวมกับผงถ่าน 2%

LH (นาโนกรัม/0.1มล.)	เกล็ดทราย (%)	B%	ค่าเฉลี่ย
0	0.0078	39.29	38.77
40		38.24	
0	0.0156	37.02	37.25
40		37.48	
0	0.03125	39.71	39.75
40		39.73	
0	0.0625	35.41	35.50
40		35.60	
0	0.03125	40.32	40.14
40		39.47	
0	0.0625	38.86	38.71
40		38.55	
0	0.0625	54.32	54.34
40		54.36	
0	0.0625	54.99	54.90
40		54.82	

ตารางที่ 5 ข. B% และค่าเฉลี่ยเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของ
 เกล็ดทราย T150 รวมกับผงถ่าน 3%

LH (นาโนกรัม/0.1มล.)	เกล็ดทราย (%)	B%	ค่าเฉลี่ย
0	0.0078	28.35	28.42
40		28.49	
0	0.0156	29.10	29.21
40		29.33	
0	0.03125	28.70	28.84
40		28.97	
0	0.0625	29.06	28.90
40		28.75	
0	0.03125	30.78	30.58
40		30.38	
0	0.0625	31.27	30.88
40		30.50	
0	0.0625	37.72	37.69
40		37.65	
0	0.0625	37.17	36.72
40		36.27	

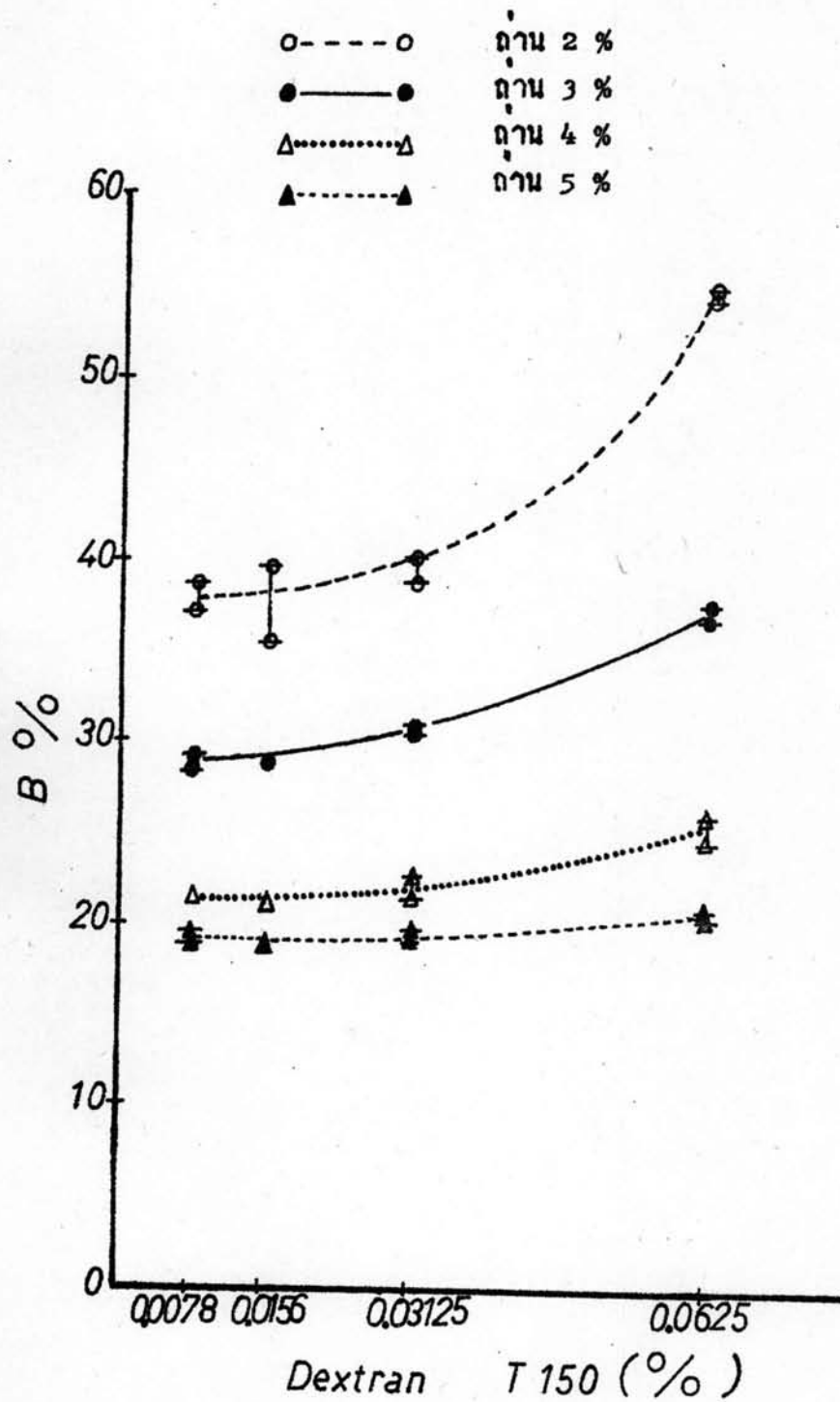
ตารางที่ 5 ค. B% และค่าเฉลี่ยเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของ
 เกกษัตริณ T150 รวมกับผงถ่าน 4%

LH (นาโนกรัม/0.1มล.)	เกกษัตริณ (%)	B%	ค่าเฉลี่ย
0	0.0078	21.62 21.28	21.45
40		21.62 21.39	21.50
0	0.0156	20.70 21.62	21.16
40		21.69 20.71	21.20
0	0.03125	21.69 21.32	21.50
40		22.33 22.87	22.60
0	0.625	26.01 26.07	26.04
40		24.81 24.63	24.72

ตารางที่ 5 ง. B% และค่าเฉลี่ยเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของ
 เกกษัตริณ T150 รวมกับผงถ่าน 5%

LH (นาโนกรัม/0.1มล.)	เกกษัตริณ (%)	B%	ค่าเฉลี่ย
0	0.0078	19.06 19.01	19.04
40		19.75 19.30	19.53
0	0.0156	19.01 19.20	19.11
40		19.17 19.26	19.21
0	0.03125	19.43 19.33	19.38
40		20.07 19.43	19.75
0	0.0625	20.62 20.23	20.43
40		20.92 20.97	20.95

รูปที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของเอกซ์แทรน และความเข้มข้นของถ่าน



8. ผลการทดลองเปรียบเทียบการใช้ผงถ่านเคลือบด้วยแคชเชอแรน T150 และ BSA

การทดลองนี้ทำเพื่อดู non-specific binding อย่างเดียว ดังนั้น จึงไม่ใส่แอนติบอดี เลือกใช้ LH มาตรฐานความเข้มข้น 0 และ 40 นาโนกรัม ต่อ 0.1 มล. ทำเป็น 2 ชุด ในแต่ละชุดแบ่งเป็นชุดย่อยอีก 5 ชุด แต่ละหลอด เติม $^{125}\text{I-LH}$ ที่ทำให้บริสุทธิ์ครั้งที่สอง 0.1 มล. , HFS 0.1 มล. , BSA - buffer (ข้อ 4.6) 0.2 มล. อินคิวเบทที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

ชุดแรก เติมแคชเชอแรน 1-0.0625% รวมกับผงถ่าน 8% (ข้อ 4.17) 0.5 มล.

ชุดที่สอง เติม BSA 1-0.0625% รวมกับผงถ่าน 8% (ข้อ 4.18) 0.5 มล.

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 6 ก และ ข เขียนกราฟระหว่าง ค่าเฉลี่ยของ B% กับปริมาณของแคชเชอแรน และ BSA ไว้ในรูปที่ 9

ผลการทดลองที่ได้คล้ายกัน เลือกใช้ผงถ่านเคลือบด้วยแคชเชอแรน เนื่องจากการใช้แคชเชอแรนประหยัดกว่า BSA

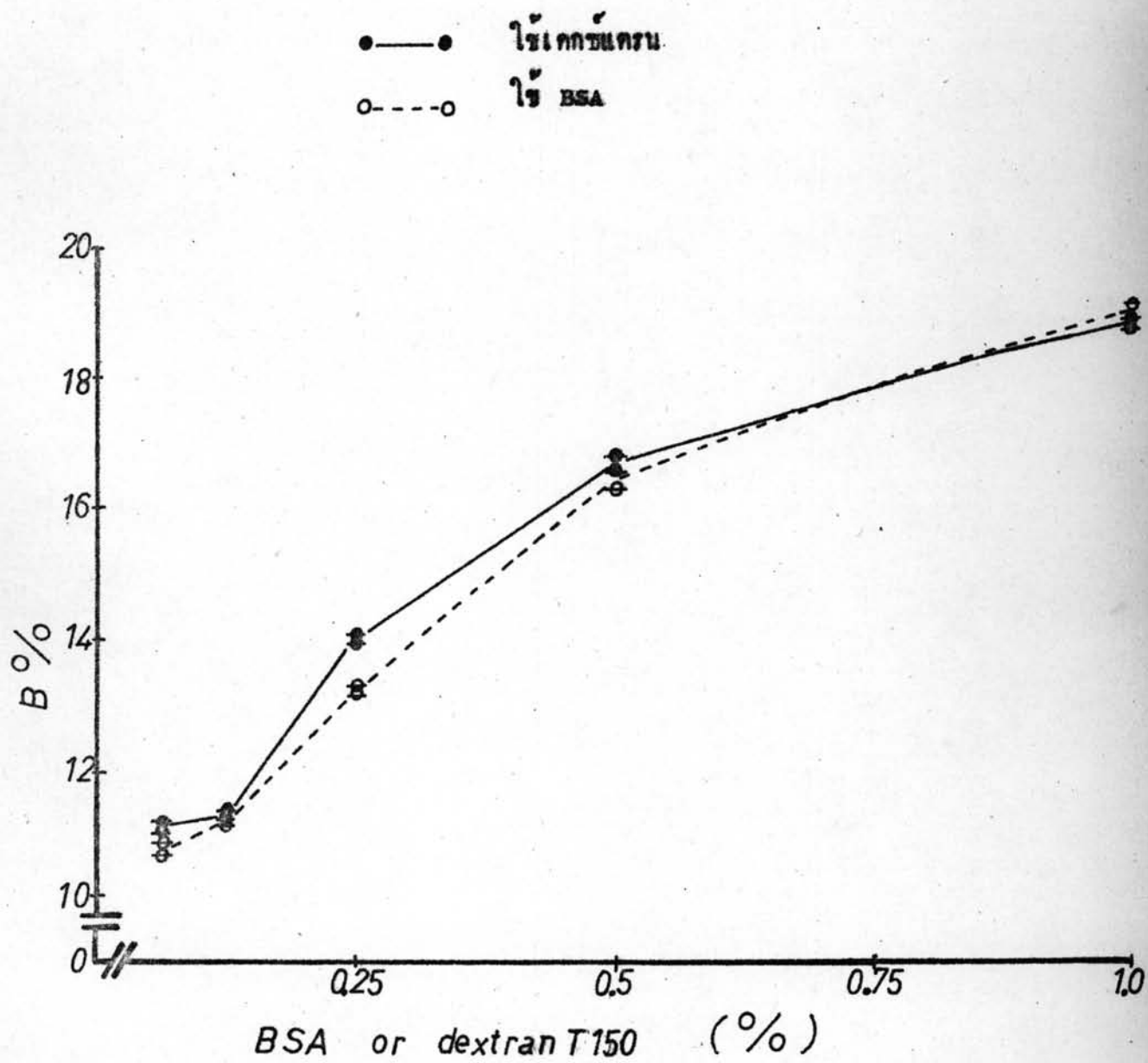
ตารางที่ 6 ก. B% และค่าเฉลี่ยเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของ
 เกล็ดทราย T150 รวมกับผงถ่าน 8%

LH (นาโนกรัม/0.1มล.)	เกล็ดทราย (%)	B%	ค่าเฉลี่ย
0	0.0625	11.03	10.98
40		10.93	
0	0.125	11.07	11.12
40		11.18	
0	0.25	11.17	11.23
40		11.30	
0	0.50	11.21	11.32
40		11.42	
0	1.00	13.68	13.91
40		14.14	
0	0.25	14.12	14.04
40		13.95	
0	0.50	16.79	16.57
40		16.38	
0	1.00	16.78	16.82
40		16.86	
0	1.00	18.75	18.75
40		18.74	
0	1.00	19.05	18.91
40		18.76	

ตารางที่ 6 ข. B% และค่าเฉลี่ยเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของ
 BSA รวมกับผงถ่าน 8%

LH (นาโนกรัม/0.1มล.)	BSA (%)	B%	ค่าเฉลี่ย
0	0.0625	10.82	10.84
40		10.87	
0	0.125	10.63	10.62
40		10.60	
0	0.125	11.15	11.09
40		11.03	
0	0.25	11.15	11.26
40		11.38	
0	0.25	13.10	13.10
40		13.11	
0	0.50	13.11	13.01
40		12.90	
0	0.50	16.41	16.68
40		16.94	
0	1.00	16.36	16.30
40		16.23	
0	1.00	18.87	19.03
40		19.19	
0	1.00	18.98	18.92
40		18.87	

รูปที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณของโคกซ์เทรน T 150 และ BSA
รวมกับผงถ่าน 8 %



9. ผลการทดลองแสดงความเข้มข้นของผนังที่ใช้ในการแยก F ออกจาก B โดยไม่มีเเคชเตรน

ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 5.2 ก. โดยเลือกความเข้มข้นของ LH มาตรฐาน 0, 25 และ 50 นาโนกรัม/0.05 มล. ทำเป็น 8 ชุด ใช้ ^{125}I -LH ที่ทำให้บริสุทธิ์ครั้งที่หนึ่ง แยกโดยใช้ผนังความเข้มข้น 1-8% (ข้อ 4.19)

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 7 เขียนกราฟระหว่าง (B-C)% กับปริมาณของผนังไว้ในรูปที่ 10

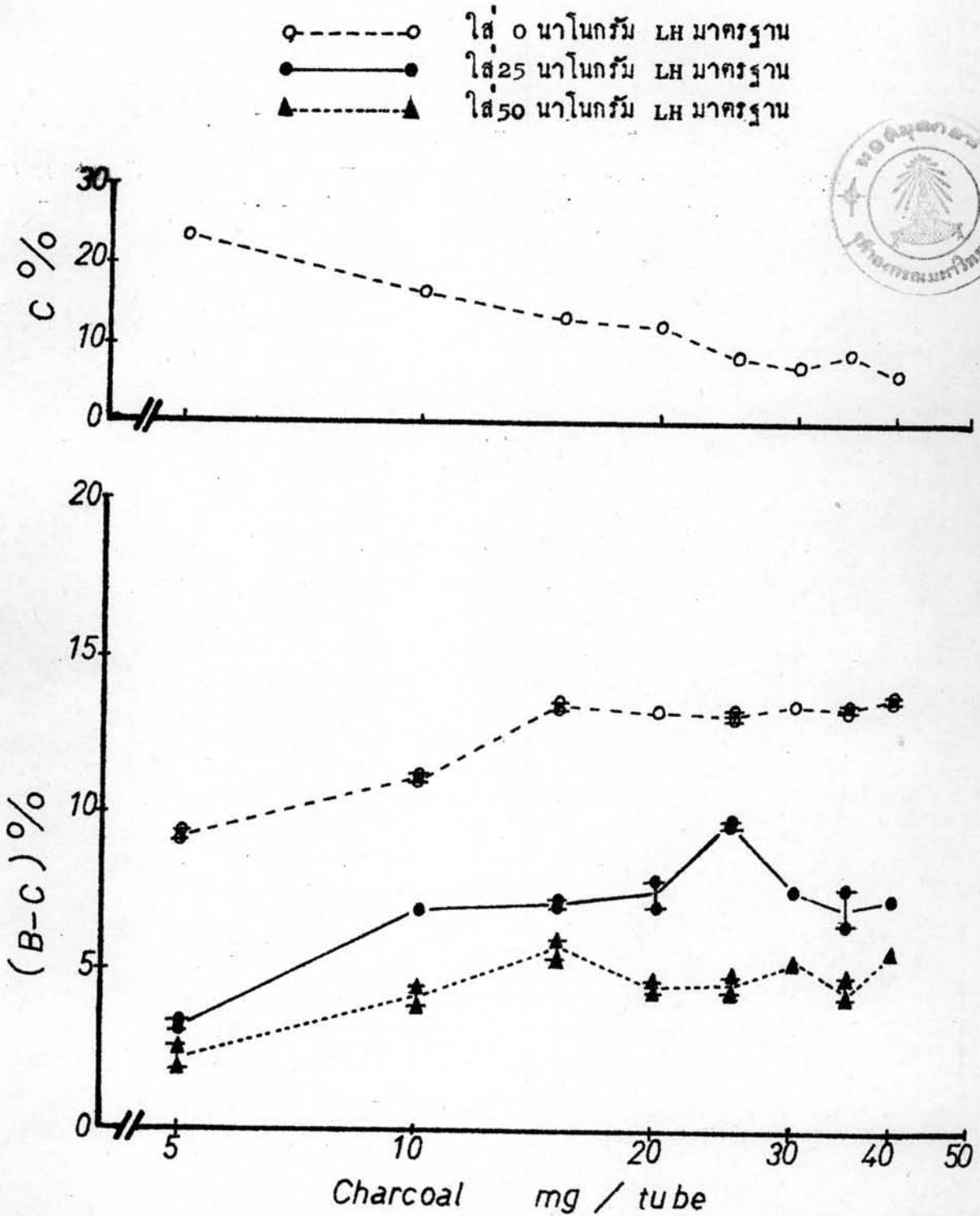
ผลการทดลองพบว่า non-specific binding มีค่าตั้งแต่ 24-6% เมื่อเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของผนัง 1-8 % และผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ใช้ผนัง 3% ไปจนถึง 8% เมื่อใช้ผนังปริมาณมากทำให้ผนังตกตะกอนเร็ว เป็นเหตุให้ปฏิบัติงานไม่สะดวกและอาจเกิดข้อผิดพลาดจากการเติมปริมาณผนังไม่เท่ากันในแต่ละหลอดได้ง่าย เนื่องจากเหตุผลเหล่านี้จึงเลือกใช้ผนังที่มีความเข้มข้น 3% ในการปฏิบัติงาน

ตารางที่ 7 (B-C)% เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของผงถ่าน

LH (นาโนกรัม/ 0.05 มล.)	ถ่าน (%)	B%	(B-C)%
Control	1	23.67*	
0	(5 มก. ถ่าน 0.5 มล.)	32.75 33.09	9.08 9.43
25		26.96 26.75	3.30 3.09
50		26.31 25.46	2.65 1.79
Control	2	16.27*	
0	(10 มก. ถ่าน 0.5 มล.)	27.27 27.50	11.00 11.22
25		23.20 23.12	6.93 6.85
50		20.04 20.73	3.76 4.45
Control	3	13.31*	
0	(15 มก. ถ่าน 0.5 มล.)	26.97 26.65	13.66 13.35
25		20.28 20.51	6.97 7.20
50		19.00 18.60	5.69 5.29
Control	4	12.36*	
0	(20 มก. ถ่าน 0.5 มล.)	25.65 25.56	13.29 13.20
25		20.18 19.37	7.82 7.01
50		16.78 17.09	4.42 4.73

LH (นาโนกรัม/ 0.05 มล.)	ถ่าน (%)	B%	(B-C)%
Control	5	8.20*	
0	(25 มก. ถ่าน 0.5 มล.)	21.30	13.17
		21.54	13.41
25		17.79	9.66
		17.91	9.78
50		17.53	4.40
		12.98	4.85
Control	6	7.25*	
0	(30 มก. ถ่าน 0.5 มล.)	20.86	13.61
		20.72	13.47
25		14.80	7.56
		14.73	7.48
50		12.55	5.30
		12.56	5.32
Control	7	8.66*	
0	(35 มก. ถ่าน 0.5 มล.)	21.99	13.34
		22.20	13.54
25		16.31	7.66
		15.15	6.50
50		12.87	4.21
		13.53	4.87
Control	8	6.22*	
0	(40 มก. ถ่าน 0.5 มล.)	20.05	13.83
		19.85	13.63
25		13.43	7.20
		13.51	7.29
50		11.78	5.56

รูปที่ 10 ผลของการทดลองเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของผงถ่าน



10. ผลการทดลองเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานเมื่อใส่และไม่ใส่ HFS

ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 5.2 ก. ใช้ LH มาตรฐานความเข้มข้นเริ่มจาก 0-50 นาโนกรัม/0.1 มล. (ข้อ 5.1) ทำเป็นสองชุด แต่ละหลอดเติม $^{125}\text{I-LH}$ ที่ทำให้บริสุทธิ์ครั้งที่หนึ่ง 10,000 cpm/0.1 มล. , ความเข้มข้นของแอนติบอดีในหลอดทดลอง (1:80,000) 0.1 มล.

ชุดที่หนึ่ง ใส่ HFS 0.1 มล. และ buffer (ข้อ 4.6) 0.1 มล.

ชุดที่สอง ใส่ buffer (ข้อ 4.6) 0.2 มล.

แยกโดยใช้ผงถ่าน 5% เคลือบด้วยแคชเชอร์แทรน 0.5%

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 8 ก. และ ข. เขียนกราฟระหว่าง (B-C)% กับปริมาณ LH มาตรฐานไว้ในรูปที่ 11

จากผลการทดลองวัดความไวของทั้งสองการทดลองได้เท่ากันคือ 35-36 พิโกกรัม/มล. ความชันของกราฟพบว่า ชุดที่ใส่ HFS = 0.64 ชุดที่ไม่ใส่ HFS = 0.45 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในสองการทดลองนี้ไม่เหมือนกัน แสดงว่าปริมาณโปรตีนที่แตกต่างกันเป็นสาเหตุสำคัญ และเนื่องจากในการวัดปริมาณ LH ในสารตัวอย่างมีซีรัมโปรตีนอยู่ด้วยจึงจำเป็นต้องใช้อ่านผลจากกราฟมาตรฐานซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่าๆกัน เพื่อให้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองของกราฟมาตรฐานและหลอดทดลองของสารตัวอย่างอยู่ในสภาพที่เปรียบเทียบกันได้

ตารางที่ 8 ก. (B-C)% และอัตราส่วน F/B เมื่อใส่ HFS , ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ และความไวในการวัด

LH (นาโนกรัม/0.1 มล.)	B%	(B-C)%	$\frac{F}{B}$	ค่าเฉลี่ย	ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ (%)
Control	15.20 *				
0	31.32 31.18	16.12 15.97	2.1930 2.2076	2.2003	0.33
3.13	30.29 30.06	15.09 14.86	2.3016 2.3264	2.3140	0.54
6.25	28.15 27.04	12.95 11.83	2.5519 2.6988	2.6253	2.80
12.50	24.83 25.32	9.63 10.12	3.0278 2.9495	2.9887	1.31
25.00	22.27 22.93	7.07 7.73	3.4903 3.3606	3.4255	1.89
50.00	19.82 19.81	4.62 4.61	4.0453 4.0468	4.0461	0.02

ค่าเฉลี่ยของความคลาดเคลื่อนทางสถิติ = 1.15 %

= 0.0115

ความชันของกราฟ = 0.64

คำนวณความไวในการวัดตามวิธีในข้อ 2.9 = 36 พิโคกรัม/มล.
(หน้า 22)

ค = 125_{I-LH} ส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยา

ตารางที่ 8 ข. (B-C)% และอัตราส่วน F/B เมื่อไม่ได้ใส่ HFS , ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ และความไวในการวัด

LH (นาโนกรัม/0.1 มล.)	B%	(B-C)%	F/B	ค่าเฉลี่ย	ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ (%)
Control	15.14*				
0	27.39 27.40	12.25 12.26	2.6512 2.6500	2.6509	0.02
3.13	26.28 25.95	11.14 10.81	2.8051 2.8532	2.8292	0.85
6.25	23.53 23.10	8.39 7.96	3.2503 3.3289	3.2896	1.19
12.5	22.61 22.52	7.47 7.37	3.4218 3.4413	3.4316	0.28
25.00	19.52 19.87	4.38 4.72	4.1223 4.0339	4.0781	1.08
50.00	17.40 17.02	2.26 1.88	4.7465 4.8751	4.8108	1.34

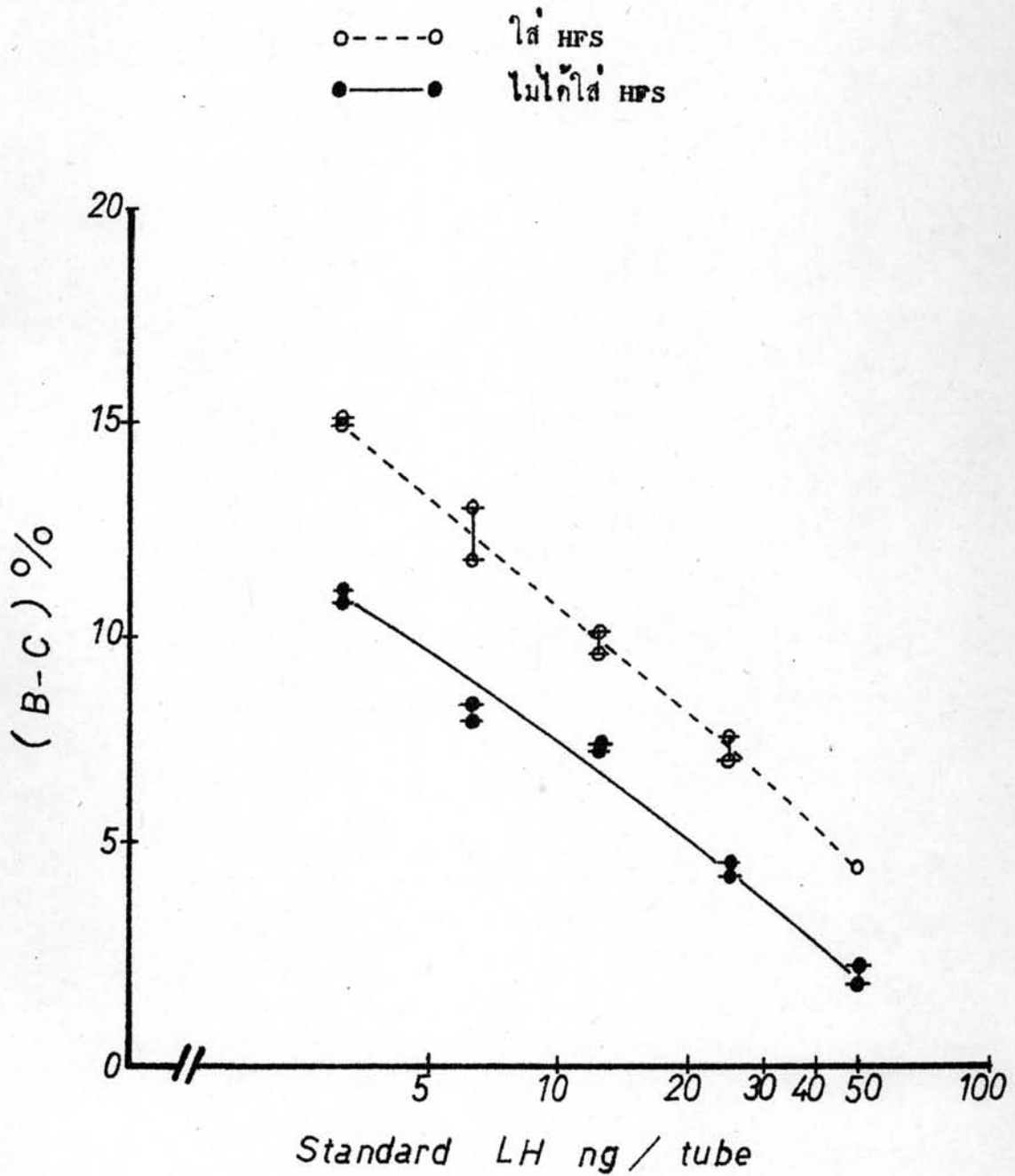
ค่าเฉลี่ยของความคลาดเคลื่อนทางสถิติ = 0.79 %

= 0.0079

ความชันของกราฟ = 0.45

ความไวในการวัด = 35 พิโคกรัม/มล.

รูปที่ 11 กราฟมาตรฐานเมื่อใส่และไม่ใส่ HFS



11 . ผลการทดลองเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน เมื่อแยกด้วยผงถ่านเคลือบด้วย
เทกซ์เตรน และผงถ่านอย่างเดี่ยว

ทำการทดลองตามวิธีข้อ 5.2 ก. ทำเป็นสองชุด ใช้ $^{125}\text{I-IH}$
 ที่ทำให้บริสุทธิ์ครั้งที่หนึ่ง อินคิวเบทที่ 4°C . เป็นเวลา 3 วัน
 ชุดที่หนึ่ง แยกโดยใช้ผงถ่าน 3% เคลือบด้วยเทกซ์เตรน T150 0.03%
 ชุดที่สอง แยกโดยใช้ผงถ่าน 3%
 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 9 ก และ ข เขียนกราฟระหว่าง
 (B-C)% กับปริมาณความเข้มข้นของ IH มาตรฐานไว้ในรูปที่ 12

กราฟมาตรฐานที่ได้จากการแยกโดยผงถ่านเคลือบด้วยเทกซ์เตรนมี
 ความชันมากกว่า และค่า non-specific สูงกว่าเมื่อแยกด้วยผงถ่านอย่างเดี่ยว
 ส่วนความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน และ ความไวในการวัดอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน
 แสดงว่าการแยกทั้งสองวิธีนี้ ต่างมีทั้งข้อดีและข้อเสีย แต่เมื่อพิจารณาทางด้านการ
 ปฏิบัติงานจริงๆ กราฟมาตรฐานทั้งสองต่างได้ผลในระดับเดียวกัน คือสามารถ
 อ่านผล IH ในซีรัมที่ต้องการจะวัดได้ในช่วงความเข้มข้นเดียวกัน จึงพอสรุปได้
 ว่าใช้ได้ผลทั้งสองวิธี

ตารางที่ 9 ก. (B-C)% และอัตราส่วน F/B เมื่อแยกด้วยผงถ่าน 3% เคลือบด้วยเคลือบแทน T150 0.03% ความกลาดเคลื่อนทางสถิติ และความไวในการวัด

IH (นาโนกรัม/0.05มล.)	B%	(B-C)%	F/B	ค่าเฉลี่ย	ความกลาดเคลื่อนทางสถิติ (%)
Control	15.02 *				
0	41.55 41.99	26.53 26.97	1.4069 1.3818	1.3944	0.90
1.56	39.47 39.20	24.45 24.18	1.5335 1.5512	1.5424	0.57
3.13	37.05 36.59	22.03 21.57	1.6993 1.7329	1.7161	0.98
6.25	34.88 34.64	19.86 19.62	1.8671 1.8872	1.8772	0.54
12.50	31.52 31.73	16.50 16.71	2.1727 2.1515	2.1621	0.49
25.00	28.28 27.88	13.26 12.86	2.5365 2.5873	2.5619	0.99
50.00	24.31 23.92	9.29 8.90	3.1139 3.1804	3.1472	1.06

ค่าเฉลี่ยของความกลาดเคลื่อนทางสถิติ = 0.79 %

= 0.0079

ความชันของกราฟ = 2.13

ความไวในการวัด = 7 พิโกกรัม/มล.

ตารางที่ 9 ข. (B-C)% และอัตราส่วน F/B เมื่อแยกด้วยผงถ่าน 3% ความ
คลาดเคลื่อนทางสถิติ และความไวในการวัด

LH (นาโนกรัม/0.05 มด.)	B%	(B-C)%	F/B	ค่าเฉลี่ย	ความคลาดเคลื่อน ทางสถิติ(%)
Control	12.68*				
0	40.59 40.72	27.91 28.03	1.4634 1.4561	}1.4598	0.25
1.56	38.83 37.90	26.15 25.22	1.5754 1.6385		
3.13	36.78 37.67	24.10 24.98	1.7186 1.6550	}1.6868	1.89
6.25	33.88 34.25	21.19 21.57	1.9519 1.9197		
12.5	31.19 30.94	18.51 18.26	2.2065 2.2316	}2.2191	0.57
25	27.43 27.57	14.75 14.88	2.6451 2.6276		
50	22.91 22.93	10.23 10.25	3.3648 3.3606	}3.3627	0.06

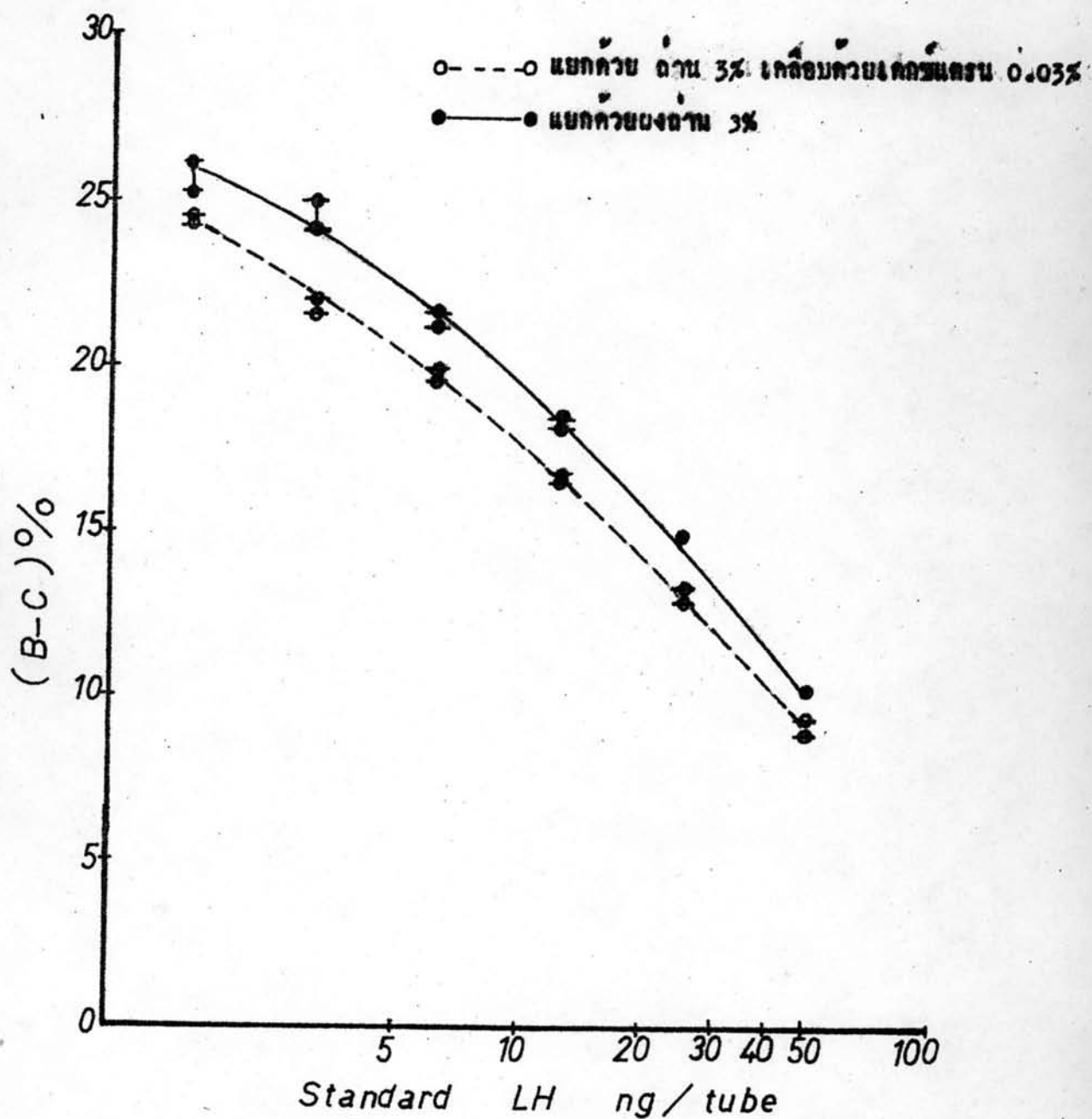
ค่าเฉลี่ยของความคลาดเคลื่อนทางสถิติ = 0.84 %

= 0.0084

ความชันของกราฟ = 1.6

ความไวในการวัด = 11 พิโคกรัม/มด.

รูปที่ 12 กราฟมาตรฐานเมื่อแยกโคโยไซ่ บ่งชี้ว่าเคลือบด้วยเทอร์แรน และด้านอย่างเดี่ยว



12. ผลการทดลองเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานโดยใช้เทคนิคการแยกด้วยผงถ่าน และแอนติบอดีชนิดที่สอง

ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 5.2 ก. และ ข. ทำเป็นสี่ชุด เทคนิคการแยกด้วยผงถ่านสองชุด แยกเป็นสภาวะสมดุลหนึ่งชุด และสภาวะไม่สมดุลหนึ่งชุด เทคนิคการแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง 2 ชุด แยกทำเช่นเดียวกับวิธีแรก ใช้ $^{125}\text{I-IH}$ ที่ทำให้บริสุทธ์ครั้งที่สอง 5,000 cpm/0.05 มล.

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 10 ก, ข, ค และ ง เขียนกราฟระหว่าง (B-C)% กับปริมาณ IH มาตรฐานไว้ในรูปที่ 13

ได้ผลการทดลองดังนี้

	การแยกด้วยผงถ่าน		การแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง	
	สภาวะสมดุล	สภาวะไม่สมดุล	สภาวะสมดุล	สภาวะไม่สมดุล
ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ(%)	0.69	0.52	0.69	0.54
ความชันของกราฟ	0.58	0.85	0.86	0.75
ความไวของการวัด (พิโคกรัม/มล.)	24.00	12.00	20.00	18.00

เทคนิคการแยกด้วยผงถ่านเมื่อทำในสภาวะสมดุล ทำให้ความชันของกราฟ และความไวของการวัด ต่างจากสภาวะไม่สมดุล ส่วนเทคนิคการแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง เกือบจะไม่แตกต่างกันเลยในทั้งสองสภาวะ

ตารางที่ 10ก. (B-C)% และอัตราส่วน F/B โดยเทคนิคการแยกด้วยผงถ่าน
ในสถานะสมบูรณ์, ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ และความไวในการวัด

LH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	B%	(B-C)%	F/B	ค่าเฉลี่ย	ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ(%)
Control	10.08*				
0	36.17 36.20	26.09 26.12	1.7647 1.7627	} 1.7637	0.06
1.56	35.40 34.81	25.32 24.74	1.8249 1.8723	} 1.8486	1.28
3.13	34.55 34.82	24.47 24.75	1.8947 1.8716	} 1.8832	0.61
6.25	33.13 32.83	23.05 22.75	2.0189 2.0463	} 2.0326	0.67
12.5	30.65 29.94	20.57 19.86	2.2629 2.3398	} 2.3014	1.67
25	26.65 26.66	16.57 16.58	2.7526 2.7511	} 2.7519	0.03
50	21.92 22.10	11.84 12.02	3.5620 3.5244	} 3.5432	0.53

ค่าเฉลี่ยของความคลาดเคลื่อนทางสถิติ = 0.69 %

= 0.0069

ความชันของกราฟ

= 0.58

ความไวในการวัด

= 24 พิโกกรัม/มล.

ตารางที่ 10ข. (B-C)% และอัตราส่วน F/B โดยเทคนิคการแยกด้วยผงถ่าน
ในสถานะไม่สมดุลย์ . ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ และความไวในการวัด

LH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	B%	(B-C)%	F/B	ค่าเฉลี่ย	ความคลาดเคลื่อน ทางสถิติ (%)
Control	10.84*				
0	33.03 33.44	22.18 22.60	2.0278 1.9902	} 2.009	0.94
1.56	31.72 31.04	20.88 20.20	2.1522 2.2217	} 2.187	1.59
3.13	31.36 31.23	20.52 20.38	2.1886 2.2022	} 2.1954	0.31
6.25	28.37 28.37	17.52 17.52	2.5251 2.5249	} 2.525	0.00
12.5	23.66 23.70	12.82 12.85	3.2259 3.2199	} 3.2229	0.09
25	21.11 20.98	10.26 10.14	3.7379 3.7666	} 3.7523	0.38
50	16.21 16.13	5.37 5.28	5.1687 5.2010	} 5.1849	0.31

ค่าเฉลี่ยของความคลาดเคลื่อนทางสถิติ = 0.52 %

= 0.0052

ความชันของกราฟ = 0.85

ความไวในการวัด = 12 พิโคกรัม/มล.

ตารางที่ 10ค. (B-C)% และอัตราส่วน F/B โดยเทคนิคการแยกหน่วยแอนติบอดี
ชนิดที่สอง ในสถานะสมดุล, ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ และความไวในการวัด

LH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	B%	(B-C)%	F/B	ค่าเฉลี่ย	ความคลาดเคลื่อน ทางสถิติ (%)
Control	3.15*				
0	34.23 34.49	31.07 31.34	1.9217 1.8993	} 1.9105	0.59
1.56	34.53 34.65	31.38 31.50	1.8958 1.8857	} 1.8907	0.26
3.13	32.44 32.58	29.29 29.43	2.0823 2.0692	} 2.0758	0.32
6.25	31.05 32.20	27.89 29.05	2.2210 2.1054	} 2.1632	2.67
12.50	28.14 28.29	24.99 25.14	2.5530 2.5347	} 2.5439	0.36
25	23.88 24.07	20.73 20.92	3.1876 3.1546	} 3.1711	0.52
50	16.51 16.48	13.36 13.33	5.0555 5.0676	} 5.0616	0.12

ค่าเฉลี่ยของความคลาดเคลื่อนทางสถิติ = 0.69 %

= 0.0069

ความชันของกราฟ

= 0.86

ความไวในการวัด

= 20 พิโคกรัม/มล.

ตารางที่ 101. (B-C)% และอัตราส่วน F/B โดยเทคนิคการแยกควยแอนติบอดี
ชนิดที่สอง ในสภาวะไม่สมดุลย์ , ความคลาดเคลื่อนทางสถิติ และความไว

LH (นาโนกรัม/0.05 มล.)	B%	(B-C)%	F/B	ค่าเฉลี่ย	ความคลาดเคลื่อน ทางสถิติ (%)
Control	2.95*				
0	27.81 27.62	24.86 24.67	2.5964 2.6201	}2.6083	0.46
1.56	27.30 27.53	24.35 24.58	2.6636 2.6328	}2.6482	0.58
3.13	26.07 26.07	23.12 23.12	2.8356 2.8356	}2.8356	0.00
6.25	24.34 24.08	21.39 21.13	3.1092 3.1534	}3.1313	0.71
12.5	20.26 20.22	17.32 17.27	3.9348 3.9450	}3.9399	0.13
25	14.64 14.89	11.69 11.94	5.8291 5.7172	}5.7732	0.97
50	8.97 8.81	6.02 5.87	10.1539 10.3452	10.2496	0.93

ค่าเฉลี่ยของความคลาดเคลื่อนทางสถิติ = 0.54 %

= 0.0054

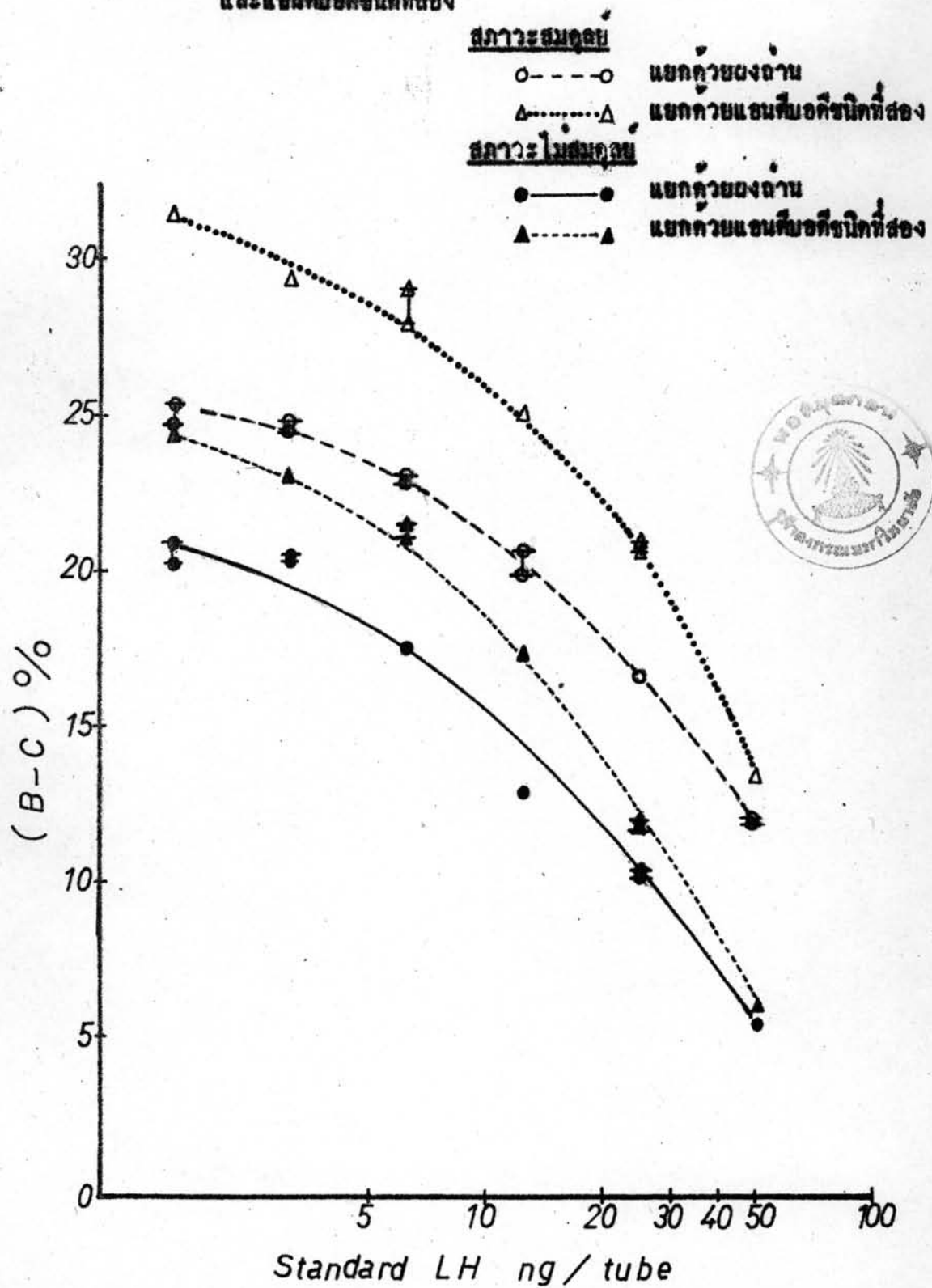
ความชันของกราฟ

= 0.75

ความไวในการวัด

= 18 พิโคกรัม/มล.

รูปที่ 13 เปรียบเทียบกราฟมาตรฐานเมื่อใช้เทคนิคการแยกด้วยวงถ่าน และแอนติบอดีชนิดที่สอง



13. ผลการทดลองหาปริมาณ IH ในซีรัมในรอบเดือนของสตรีที่ปกติ

ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 5.2 ข. วิธีแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง ในสภาวะสมมูลย์ ซึ่งมี reliability ของวิธีทดลองดังกล่าวไว้ในข้อ 14 ตารางที่ 32 ข. และ 33 ข. หน้า 91 และ 95 ตามลำดับ

ทดลองกับสตรีปกติจำนวน 19 ราย รวม 87 รอบประจำเดือน อายุ ตั้งแต่ 18-35 ปี จากผลการทดลองพบว่า

1. มี 1 คนไม่พบ IH peak เลย จากการทดลองตลอด 5 รอบประจำเดือน
2. ใน 18 รายที่พบ IH peak ทดลองทั้งหมด 82 รอบประจำเดือน พบ IH peak 53 รอบประจำเดือน (64.60%)
3. มี 64 รอบประจำเดือนเท่านั้นที่เจาะเลือดติดต่อกัน ตอนกลางของรอบเดือนอย่างน้อยที่สุด 3 วัน และพบ IH peak 42 รอบประจำเดือน (65.60%)
4. วันของรอบประจำเดือนที่พบ IH peak มีตั้งแต่วันที่ 9-25 จาก 53 IH peak พบว่า 45 IH peak (86.5%) อยู่ระหว่างวันที่ 13-17 ของรอบประจำเดือน 7 IH peak (13.5%) อยู่ระหว่างวันที่ 22-25 และ 1 IH peak (2%) พบในวันที่ 9
5. ระยะเวลาของรอบประจำเดือนในสตรีที่ทดลองทุกคนอยู่ในช่วง 24-32 วัน
6. ปริมาณ IH ใน follicular phase มีค่าระหว่าง 7-86 นาโนกรัม/มล.
ปริมาณ IH peak มีค่าระหว่าง 113-868 นาโนกรัม/มล.
ปริมาณ IH ใน luteal phase มีค่าระหว่าง 5-53 นาโนกรัม/มล.

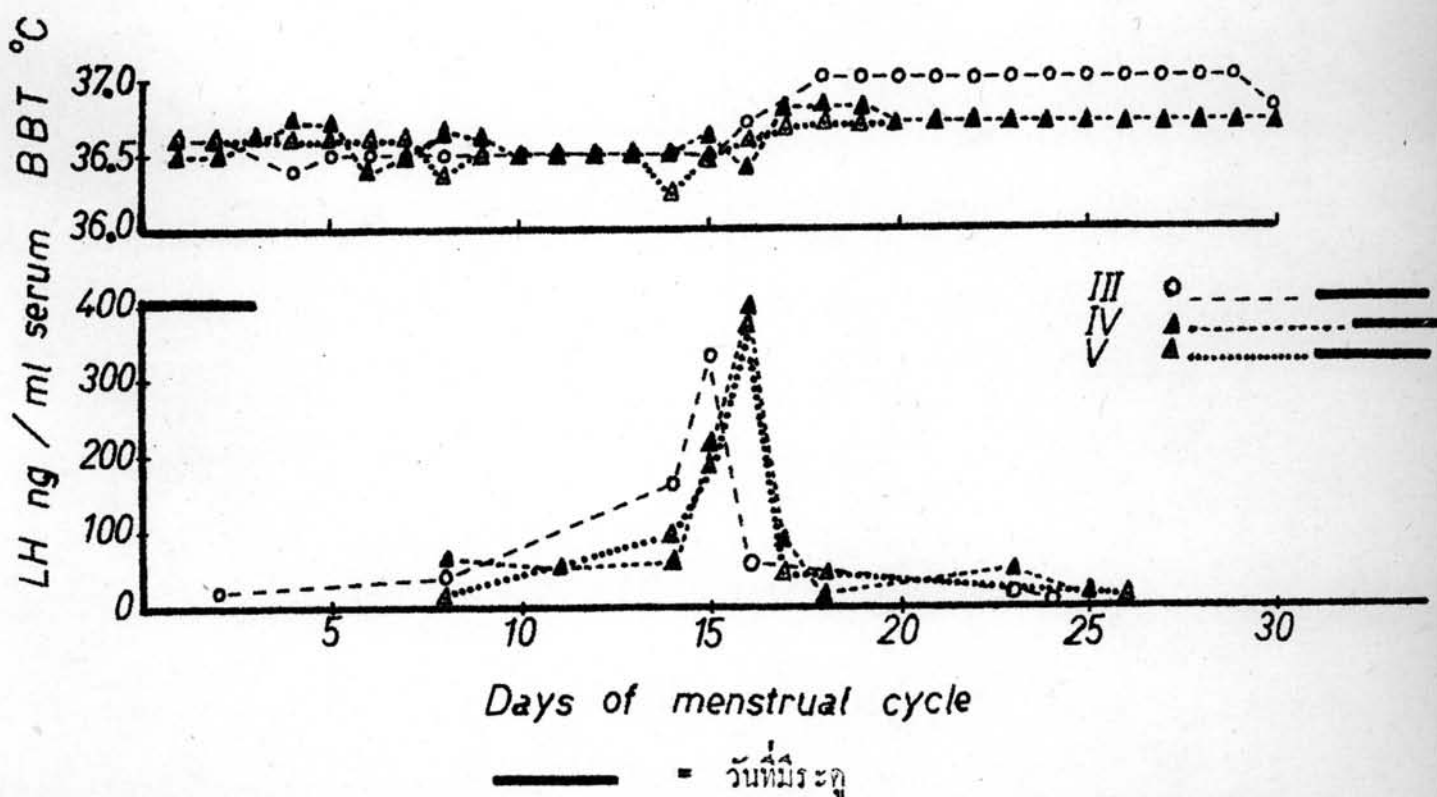
ผลการทดลองแสดงปริมาณ IH ในรอบเดือนไว้ในตารางที่ 11-29
เขียนกราฟระหว่างปริมาณ IH ในรอบเดือน กับเวลาไว้ในรูปที่ 14-31

ตารางที่ 11 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 1 (ค.ภ. อายุ 24 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH *./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH *./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH *./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH *./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH *./มล.
2	27	2	13	2	22	8	65	8	29
8	38	8	24	8	41	11	51	14	91
15	47	14	34	14	163	14	64	15	190
22	16	15	32	15	<u>333</u>	15	213	16	<u>374</u>
29	25	16	25	16	63	16	<u>391</u>	17	46
		24	5	23	29	17	88	18	42
				24	15	18	23	26	22
						23	50		
						25	20		

*(นก. = นาโนกรัม)

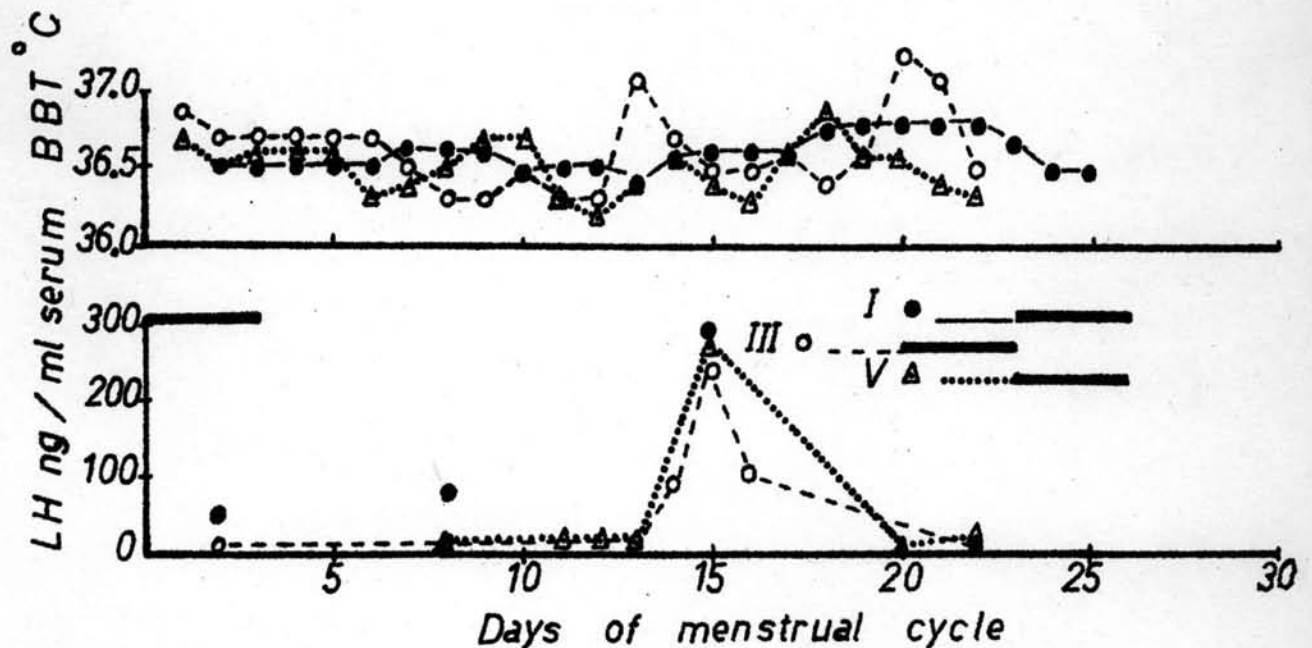
รูปที่ 14 ระดับ LH ในซีรัมใน 3 รอบเดือนของรายที่ 1



ตารางที่ 12 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 2 (ก.ศ. อายุ 20 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	46	8	22	2	<5	2	8	8	10
8	75	14	36	8	9	8	<5	11	17
15	<u>283</u>	15	28	13	10	11	15	12	18
22	5	22	<5	14	88	12	8	13	11
		24	5	15	<u>237</u>	13	13	15	<u>275</u>
				16	103	14	10	20	<5
				22	<5	15	55	22	13
						20	<5		
						22	13		

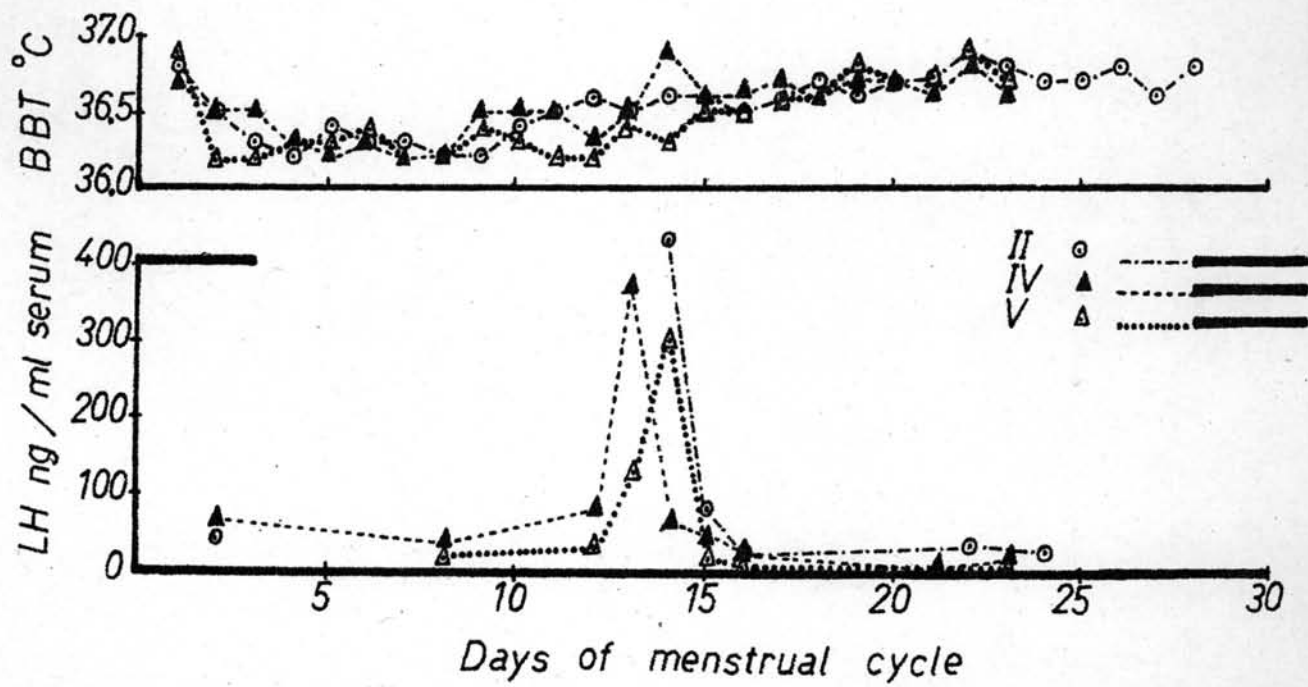
รูปที่ 15 ระดับ LH ในซีรัมใน 3 รอบเดือนของรายที่ 2



ตารางที่ 13 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 3 (อ.ศ. อายุ 33 ปี)

รอบเดือนที่ II		III		IV		V	
วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.
2	42	2	44	2	65	8	21
14	<u>431</u>	8	31	8	35	12	31
15	80	14	68	12	81	13	132
16	21	15	28	13	<u>376</u>	14	<u>302</u>
22	30	16	31	14	60	15	16
24	21	22	18	15	44	16	6
		24	13	16	17	21	<5
				21	<5	23	<5
				23	8		

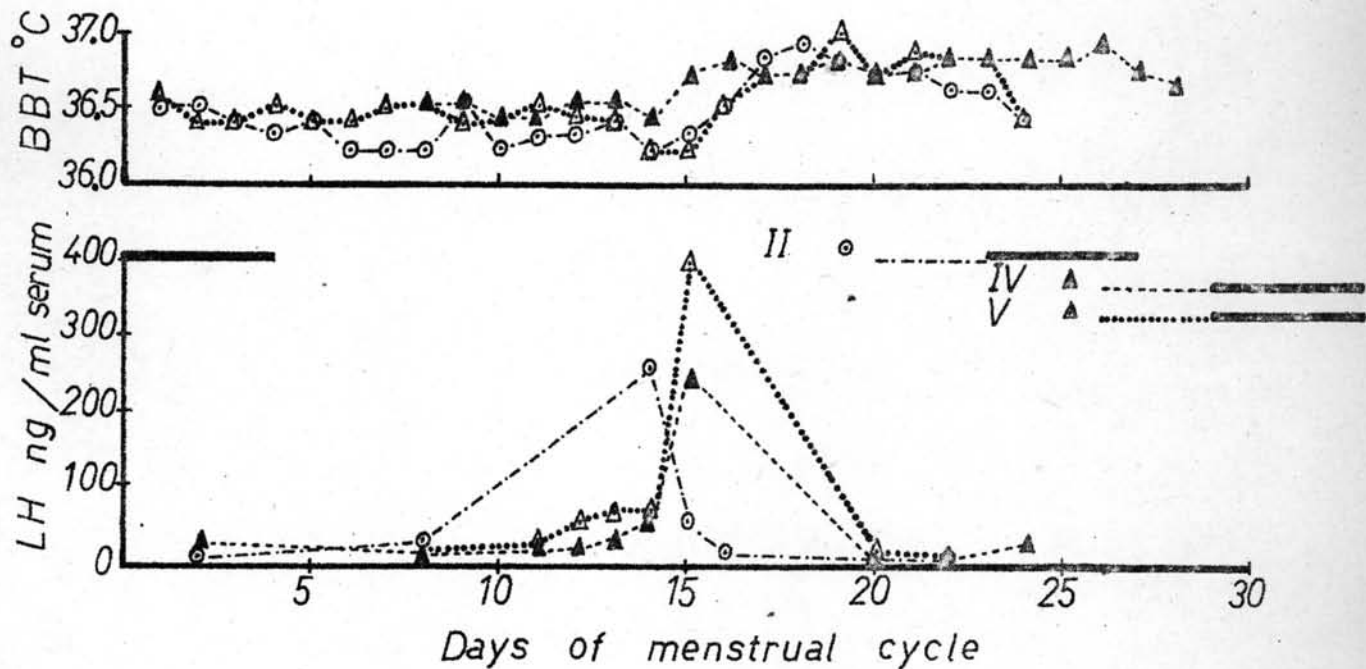
รูปที่ 16 ระดับ LH ในซีรัมใน 3 รอบเดือนของรายที่ 3



ตารางที่ 14 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 4 (ศ.ช. อายุ 22 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของรอบเดือน	LH นก./มล.
2	18	2	<5	2	22	2	20	8	11
9	<u>166</u>	8	24	8	23	8	16	11	17
22	5	14	<u>259</u>	14	22	11	23	12	52
		15	53	15	23	12	16	13	64
		16	11	16	40	13	32	14	66
		22	<5	22	23	14	57	15	<u>395</u>
				24	21	15	<u>240</u>	20	11
						20	8	22	13
						22	9		
						24	21		

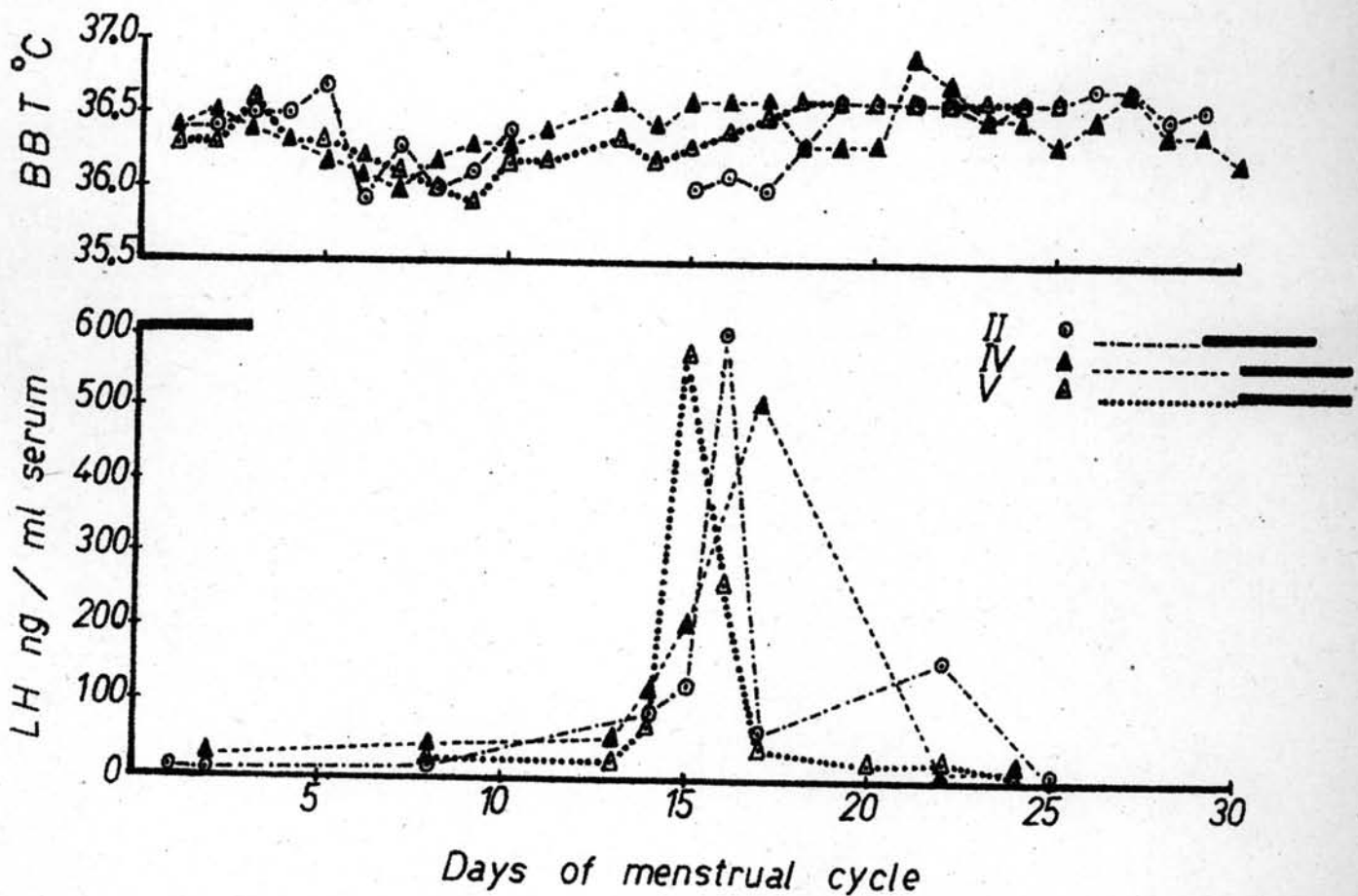
รูปที่ 17 ระดับ LH ในซีรัมใน 3 รอบเดือนของรายที่ 4



ตารางที่ 15 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 5 (ส.จ. อายุ 21 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	17	1	10	2	8	2	25	8	18
8	16	2	8	8	16	8	42	13	20
15	44	8	15	14	35	13	55	14	71
22	6	14	89	15	45	14	121	15	<u>572</u>
		15	126	16	29	15	211	16	258
		16	<u>603</u>	22	<u>118</u>	17	<u>510</u>	17	40
		17	61	24	46	22	16	20	23
		22	160			24	11	22	20
		24	< 5					24	6

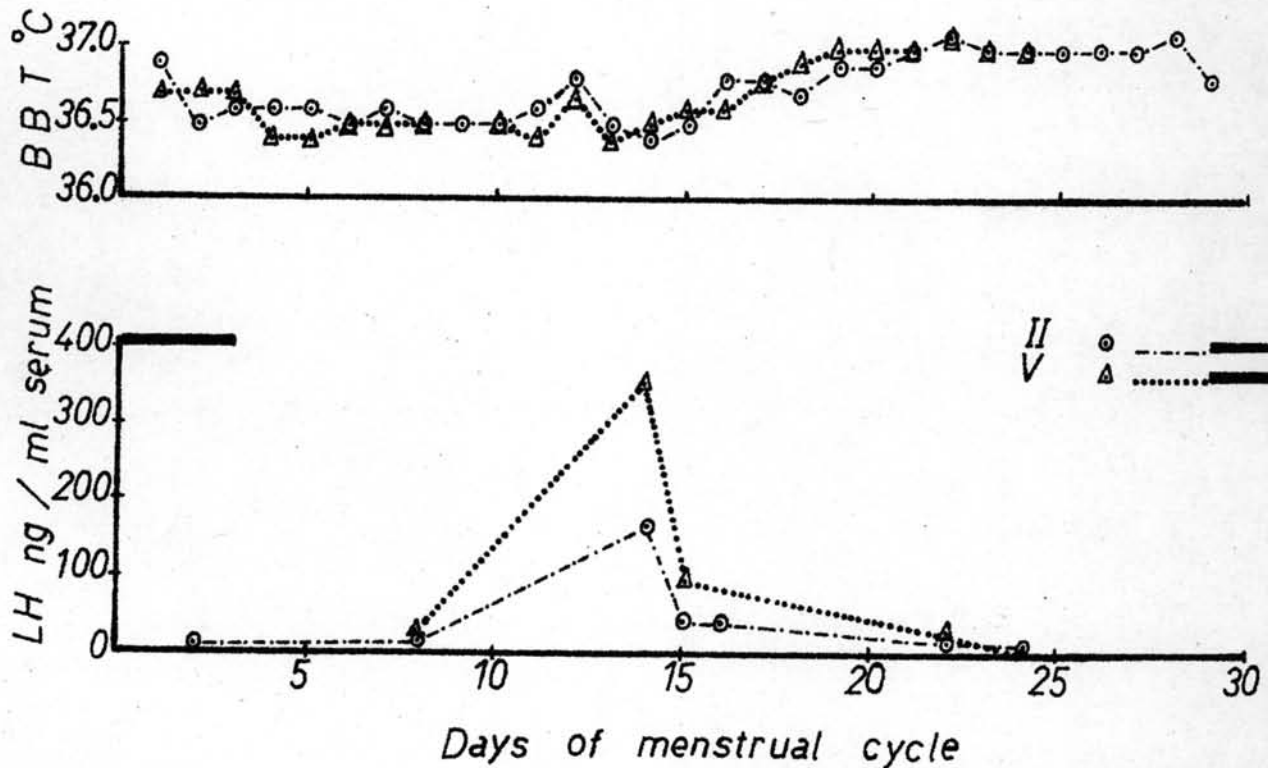
รูปที่ 18 ระบุว่า LH ในซีรัมใน 3 รอบเดือนของรายที่ 5



ตารางที่ 16 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 6 (อ.ภ. อายุ 27 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	14	2	10	2	16	8	34	8	24
8	22	8	16	8	14	13	15	14	<u>357</u>
15	32	14	<u>167</u>	14	37	14	48	15	97
22	12	15	43	15	59	15	41	22	21
		16	41	16	55	16	56	24	5
		22	19	22	26	22	14		
		24	9	24	11	24	22		

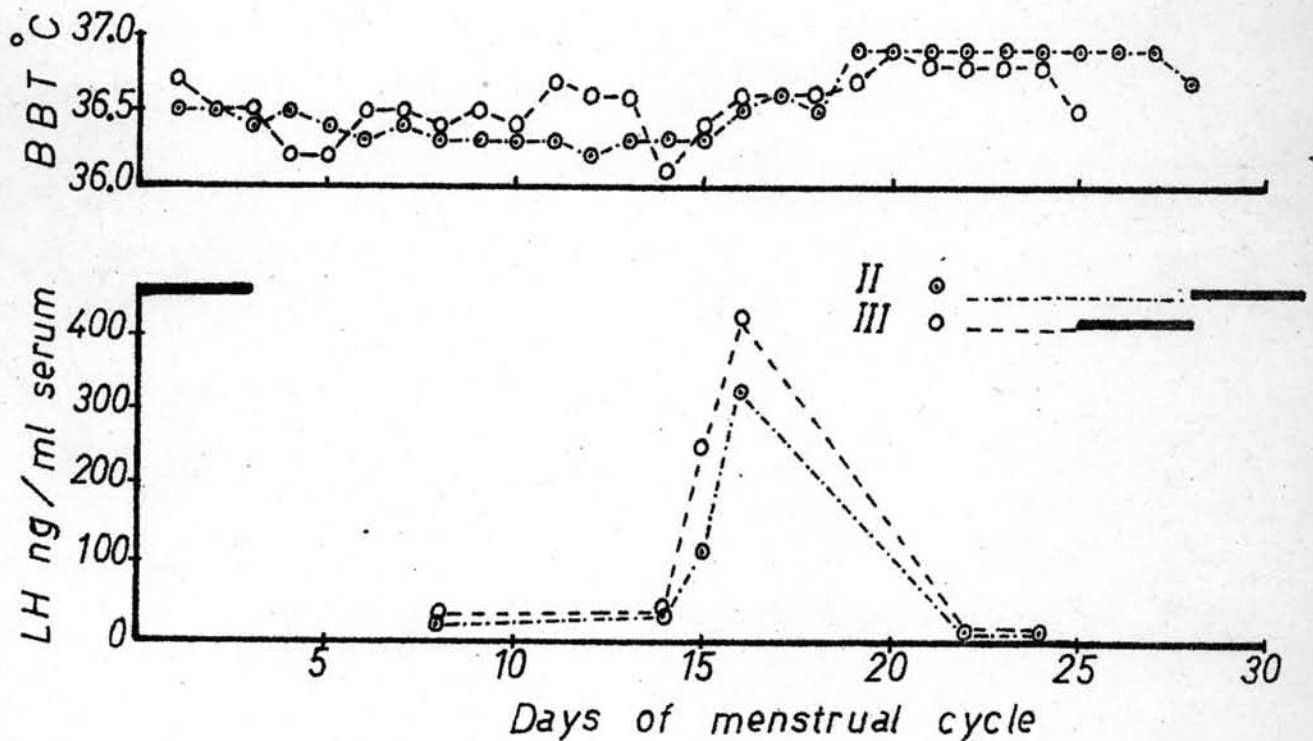
รูปที่ 19 ระดับ LH ในซีรัมใน 2 รอบเดือนของรายที่ 6



ตารางที่ 17 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 7 (จ.ม. อายุ 19 ปี)

รอบเดือนที่ II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
8	23	2	23	8	< 5	8	12
14	31	8	26	11	18	11	25
15	117	14	34	12	26	12	< 5
16	<u>325</u>	15	253	13	19	15	19
22	10	16	<u>426</u>	14	< 5	20	26
24	15	22	11	15	15		
		24	13	20	38		
				22	<u>230</u>		

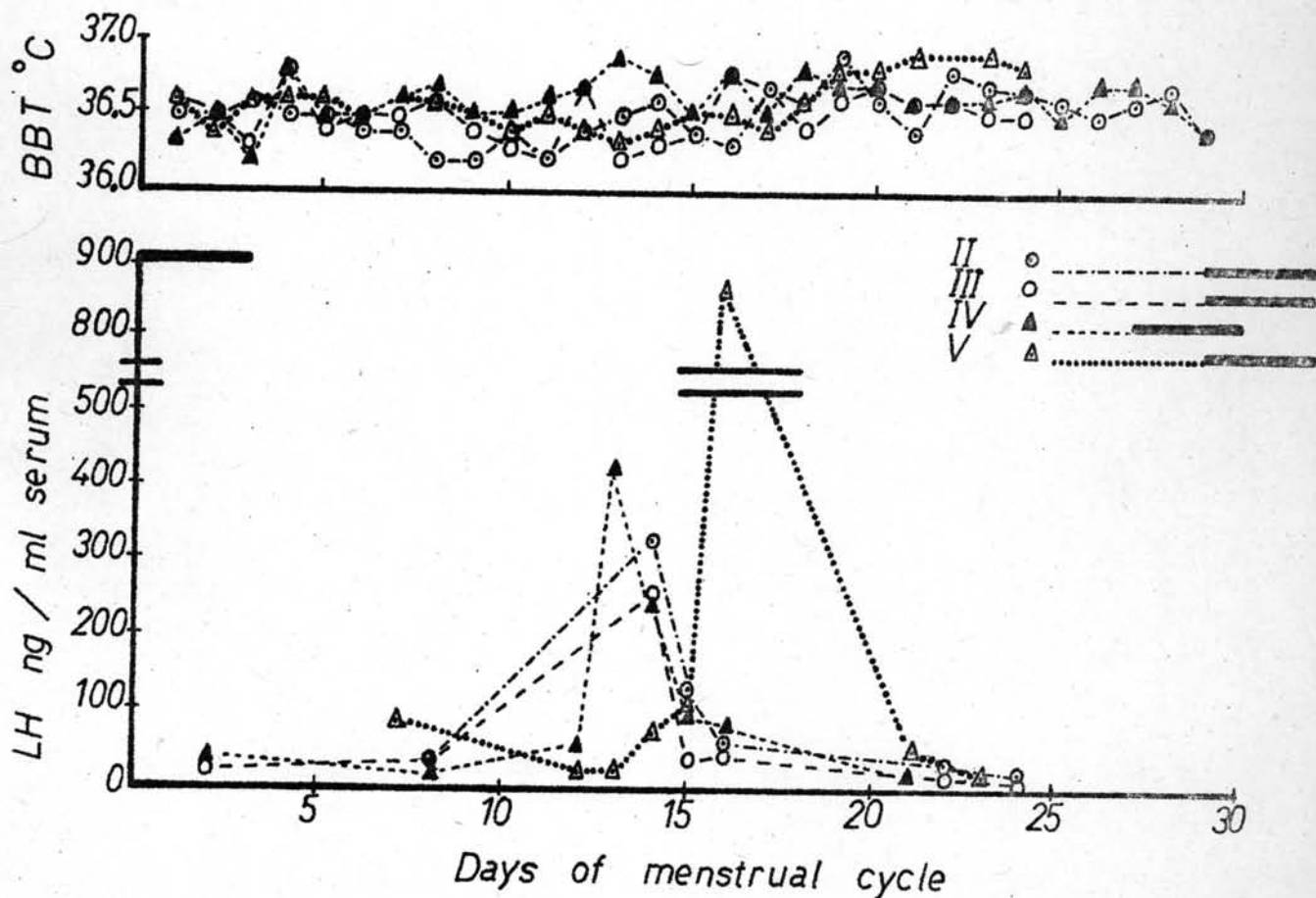
รูปที่ 20 ระดับ LH ในซีรัมใน 2 รอบเดือนของรายที่ 7



ตารางที่ 18 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 8 (ฟ.ภ. อายุ 31 ปี)

รอบเดือนที่ II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
8	27	2	24	2	29	7	86
14	<u>324</u>	8	29	8	20	12	19
15	130	14	<u>253</u>	12	54	13	21
16	157	15	33	13	<u>430</u>	14	70
22	33	16	41	14	249	15	166
24	20	22	20	15	95	16	<u>868</u>
		24	16	16	81	21	46
				21	15	23	19
				24	16		

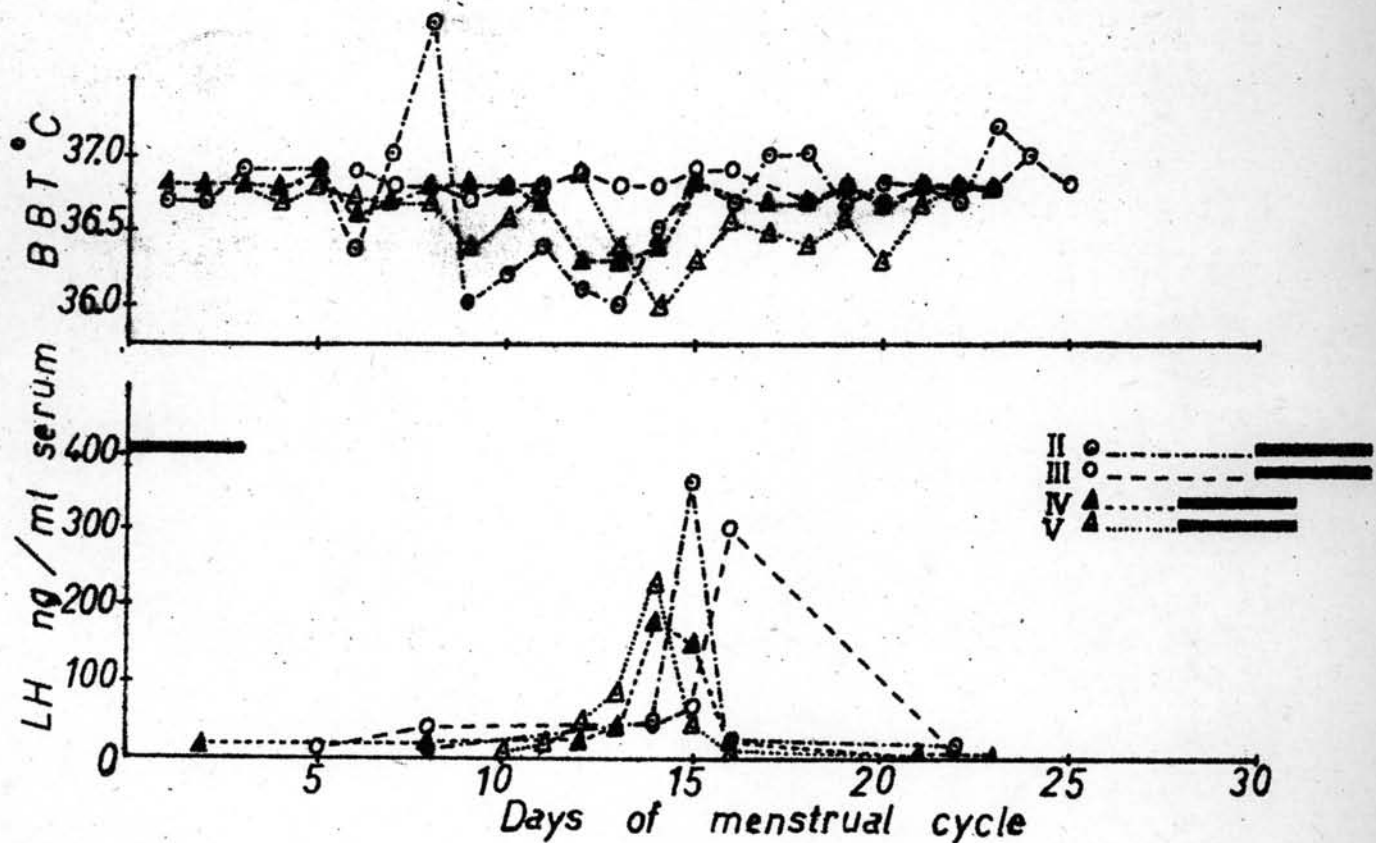
รูปที่ 21 ระดับ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 8



ตารางที่ 19 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 9 (อ.พ. อายุ 30 ปี)

รอบเดือนที่ II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
8	11	5	13	2	15	10	14
14	49	8	39	8	22	11	22
15	<u>357</u>	14	43	12	29	12	52
16	23	15	65	13	48	13	91
22	15	16	<u>300</u>	14	<u>182</u>	14	<u>230</u>
		22	5	15	151	15	45
				16	22	16	8
				21	<5	21	<5
				23	6		

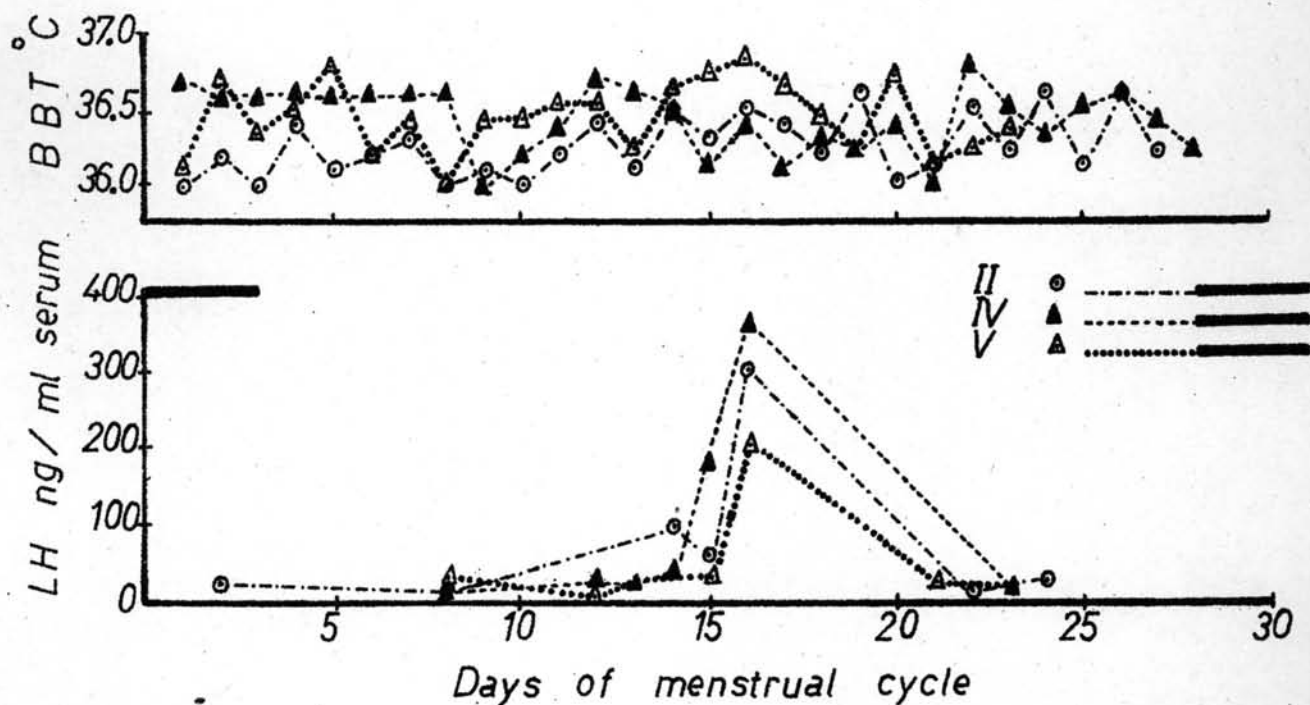
รูปที่ 22 ระดับ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 9



ตารางที่ 20 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 10 (ส.ศ. อายุ 27 ปี)

รอบเดือนที่ II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	18	2	<5	8	11	8	25
8	12	8	<5	12	22	12	16
14	97	14	30	13	20	13	17
15	57	15	23	14	39	15	25
16	<u>300</u>	16	48	15	179	16	<u>206</u>
22	9	22	32	16	<u>368</u>	21	15
24	26	24	<u>159</u>	23	15	23	14

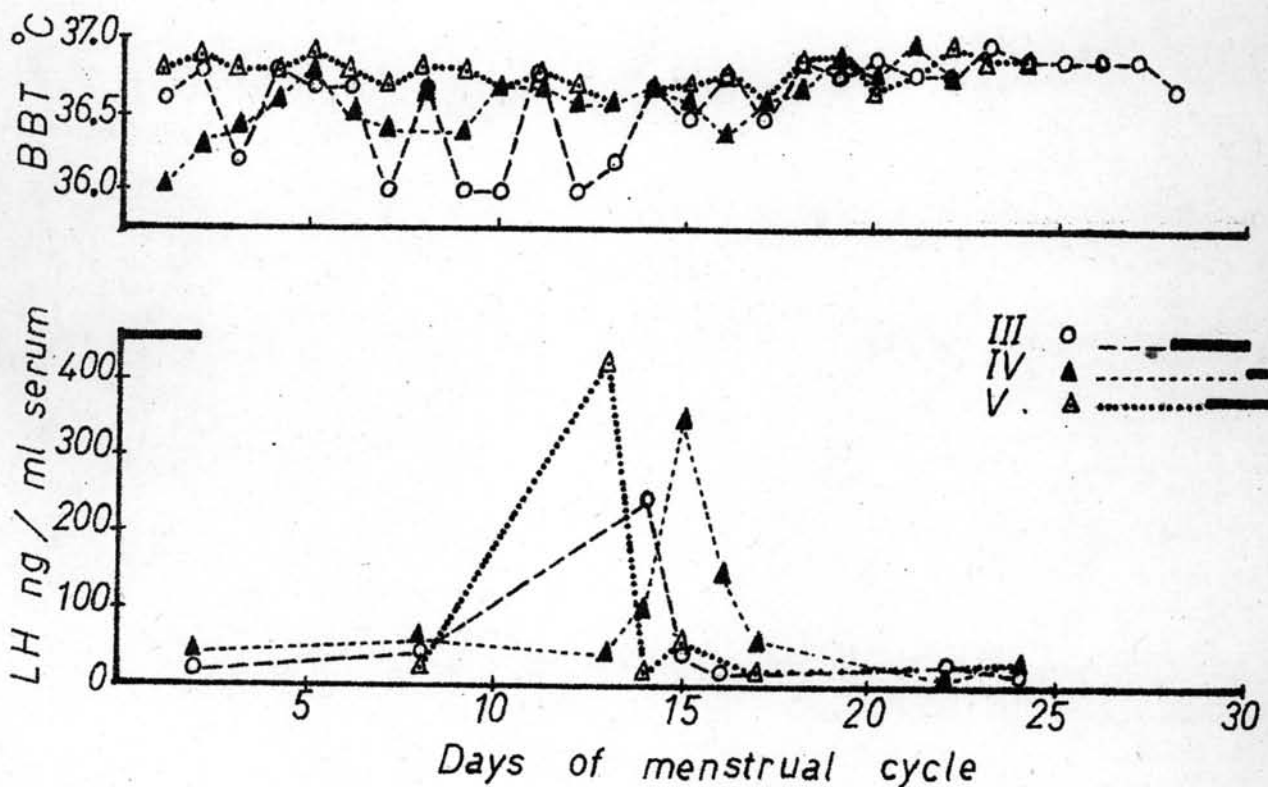
รูปที่ 23 ระดับ LH ในซีรัมใน 3 รอบเดือนของรายที่ 10



ตารางที่ 21 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 11 (อ.ว. อายุ 21 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
1	14	1	41	2	19	2	41	8	33
8	42	2	44	8	44	8	57	13	<u>428</u>
15	79	8	40	14	<u>246</u>	13	45	14	15
22	6	14	41	15	43	14	101	15	52
29	41	15	18	16	19	15	<u>348</u>	17	18
		16	51	22	31	16	152	22	24
		22	23	24	19	17	56	24	23
		24	22			22	26		
						24	25		

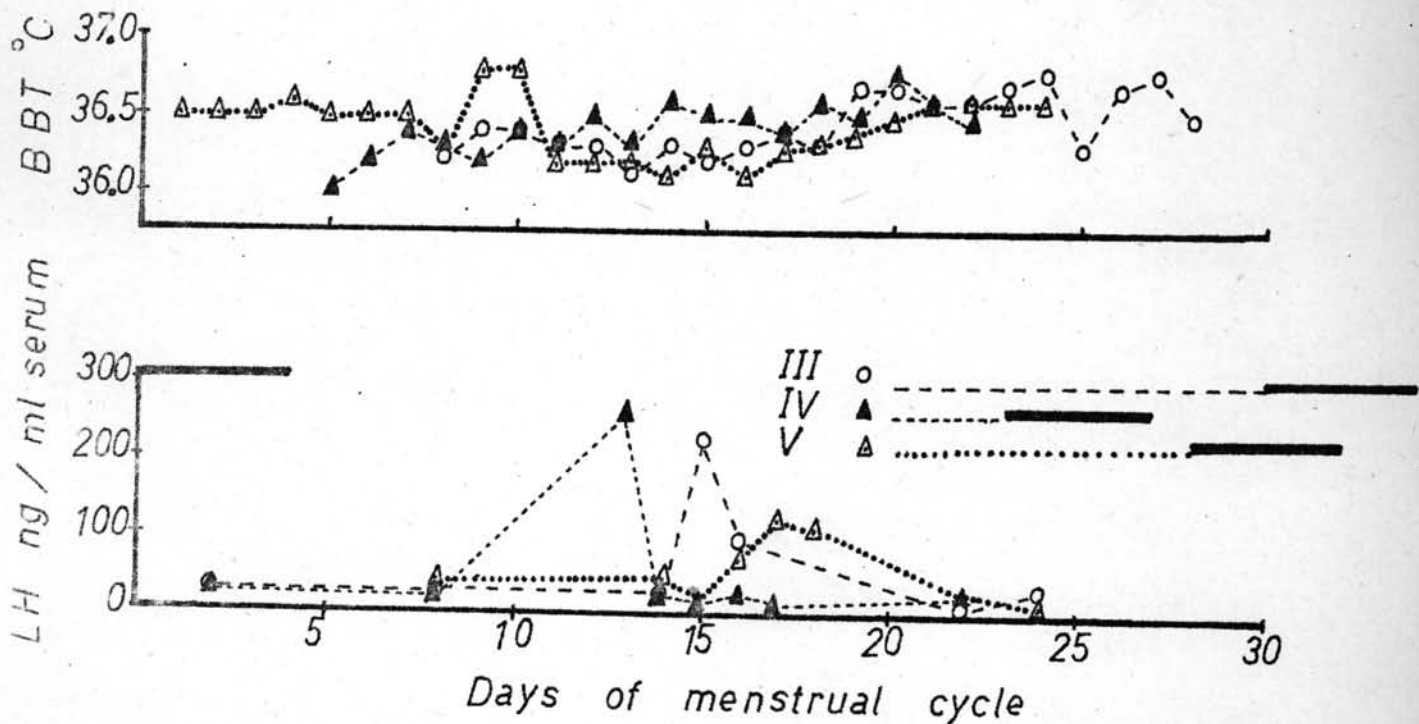
รูปที่ 24 ระดับ LH ในซีรัมใน 3 รอบเดือนของรายที่ 11



ตารางที่ 22 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 12 (ค.อ. อายุ 28 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	35	2	18	2	30	2	28	8	35
9	55	8	10	8	27	8	30	14	45
15	23	14	58	14	30	13	<u>267</u>	15	28
22	26	16	34	15	<u>233</u>	14	28	16	76
29	21	22	49	16	97	15	23	17	<u>127</u>
		24	30	22	13	16	26	18	114
				24	28	17	15	22	27
						22	21	24	14

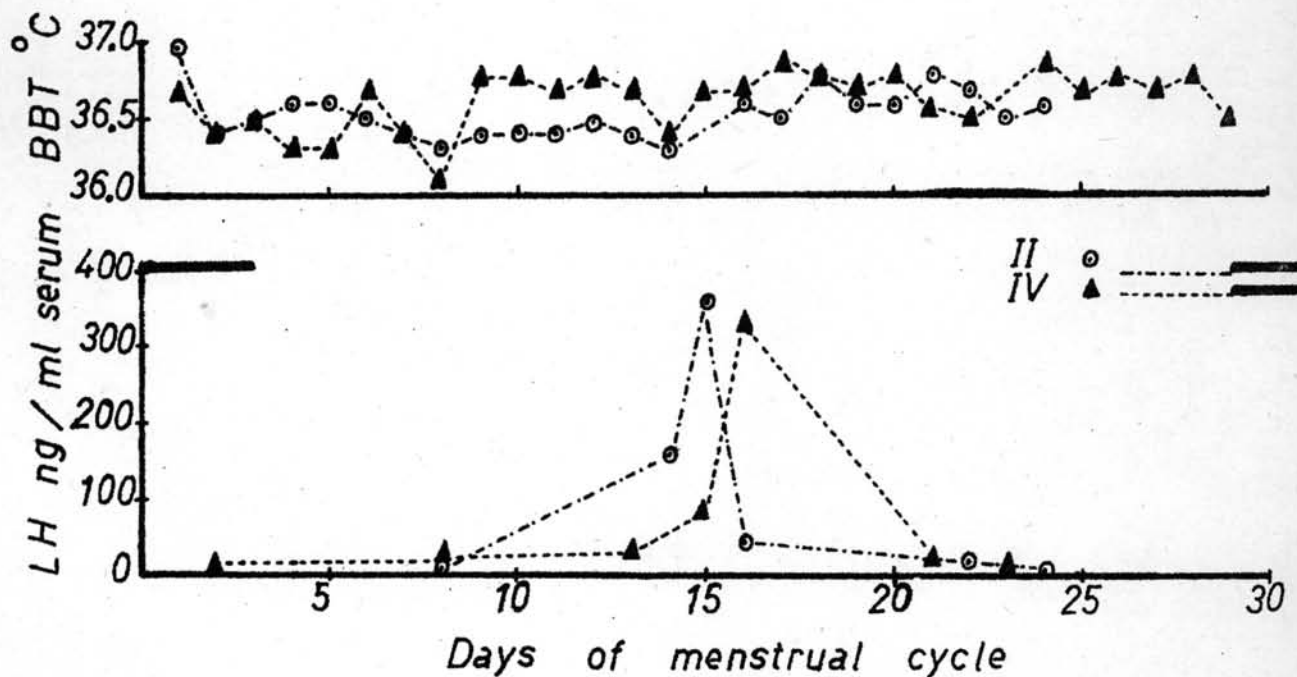
รูปที่ 25 ระดับ LH ในซีรัมใน 3 รอบเดือนของรายที่ 12



ตารางที่ 23 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 13 (อ.ศ. อายุ 21 ปี)

รอบเดือนที่ II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มด.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มด.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มด.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มด.
8	7	2	25	2	17	8	26
14	161	9	13	8	24	12	19
15	<u>361</u>	14	28	13	31	13	31
16	48	15	48	15	89	14	23
22	22	16	75	16	<u>328</u>	15	18
24	10	24	9	21	23	16	70
				23	15	21	<5
						23	21

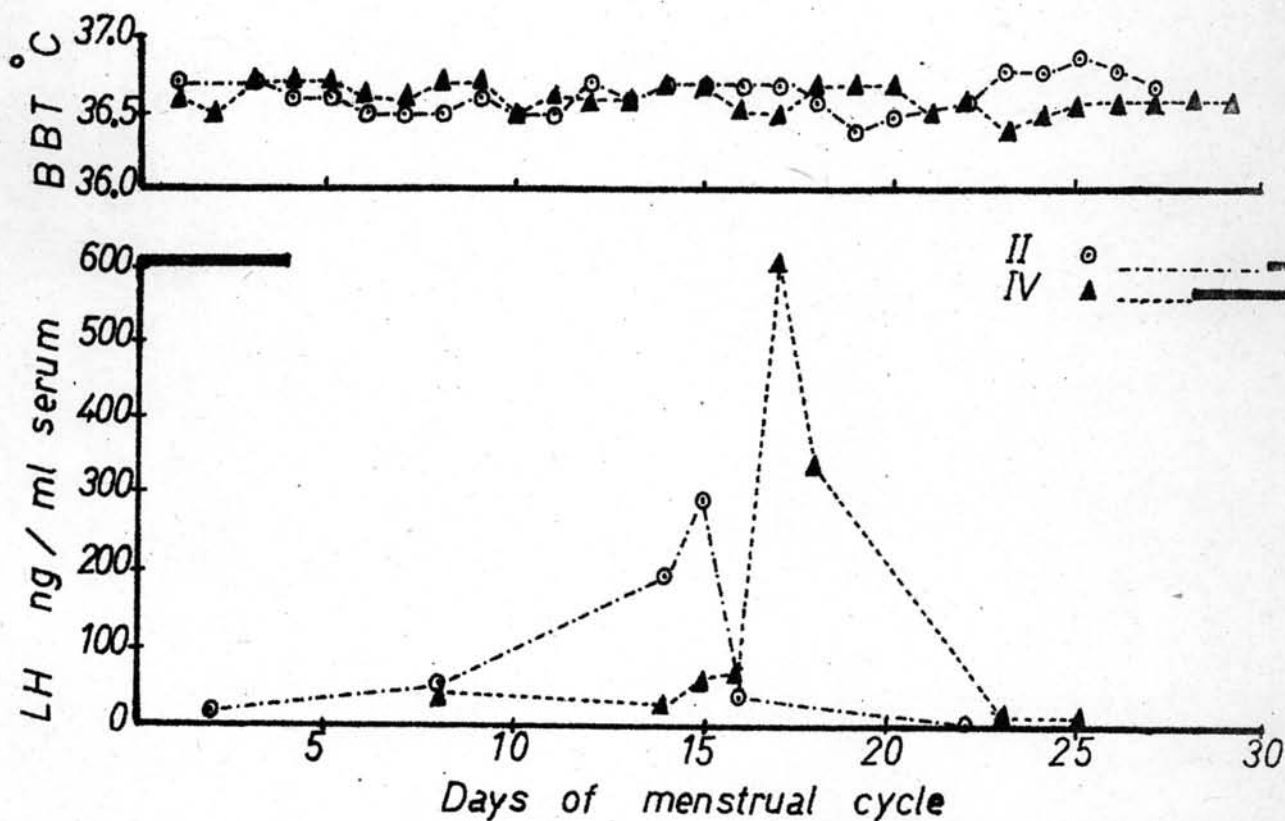
รูปที่ 26 ระดับ LH ในซีรัมใน 2 รอบเดือนของรายที่ 13



ตารางที่ 24 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 14 (ป.ก. อายุ 18 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
8	11	2	16	2	20	8	39
15	15	8	46	8	35	14	24
22	16	14	194	14	26	15	58
29	5	15	<u>291</u>	15	28	16	68
		16	35	16	24	17	<u>605</u>
		22	<5	22	<5	18	343
				24	9	23	8
						25	10

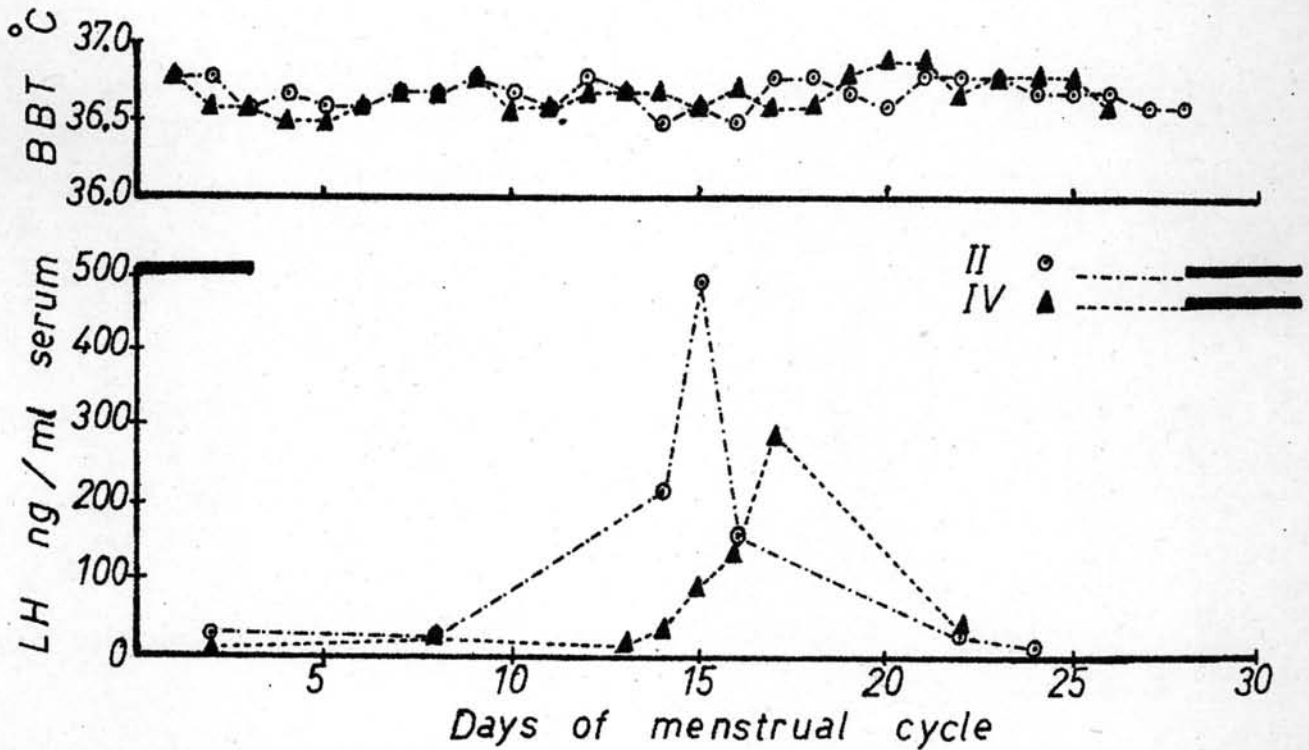
รูปที่ 27 ระดับ LH ในซีรัมใน 2 รอบเดือนของรายที่ 14



ตารางที่ 25 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 15 (ท.จ. อายุ 23 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	21	2	26	2	12	2	13
8	29	8	26	8	34	8	26
15	33	14	216	14	46	13	17
22	22	15	<u>492</u>	15	40	14	37
29	35	16	166	16	60	15	90
		22	28	22	26	16	144
		24	10	24	10	17	<u>292</u>
						22	32

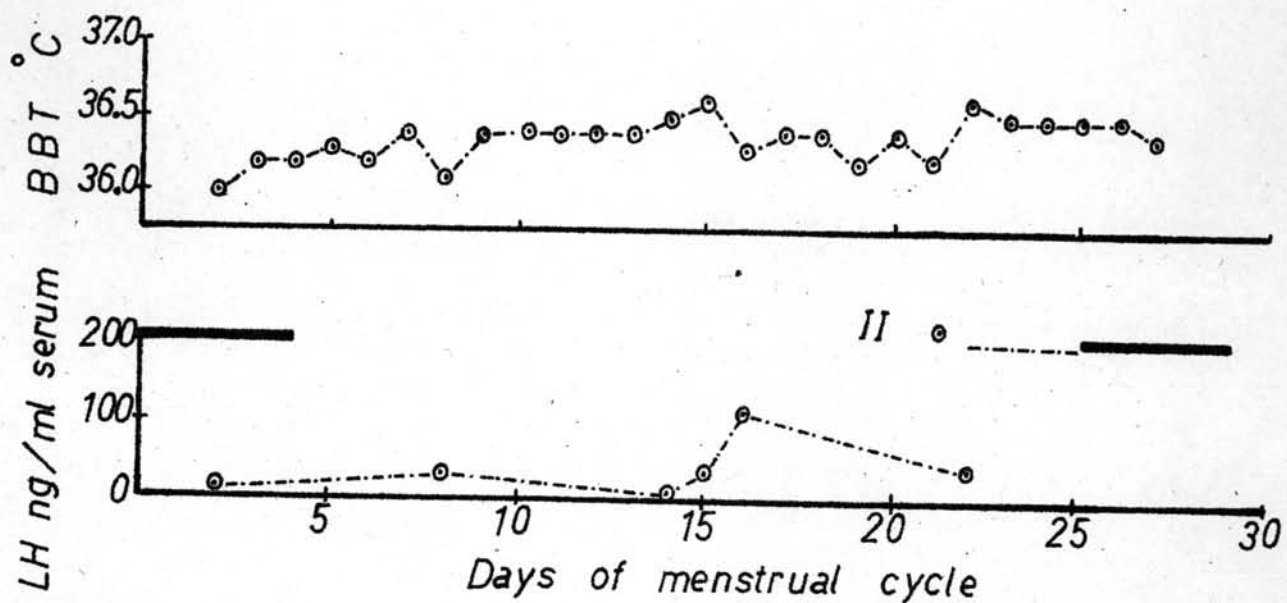
รูปที่ 28 ระดับ LH ในซีรัมใน 2 รอบเดือนของรายที่ 15



ตารางที่ 26 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 16 (ส.ว. อายุ 22 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นค./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นค./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นค./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นค./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นค./มล.
2	9	2	13	2	9	8	12	8	16
8	21	8	31	8	20	12	17	12	23
15	32	14	8	14	33	13	28	15	71
22	49	15	37	15	35	14	29	16	53
29	35	16	<u>114</u>	16	30	15	40	21	61
		22	40	22	113	16	67	23	<u>148</u>
				24	<u>228</u>	21	204		
						23	<u>519</u>		

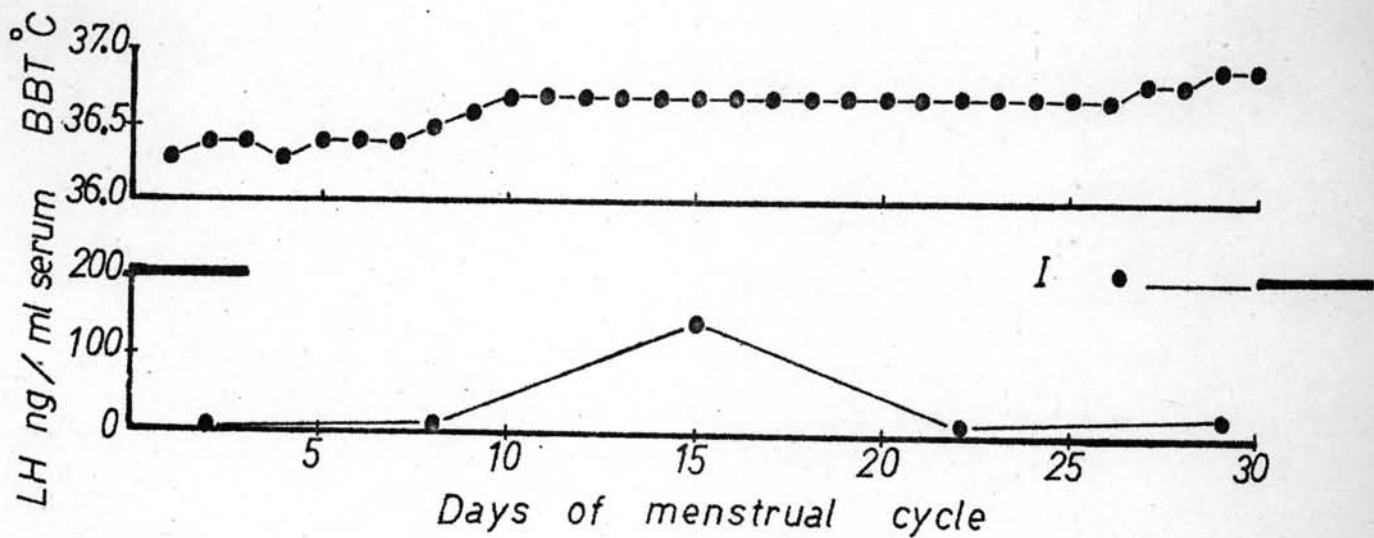
รูปที่ 29 ระดับ LH ในซีรัมใน 1 รอบเดือนของรายที่ 16



ตารางที่ 27 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 17 (ช.ม. อายุ 24 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	<5	2	15	2	20	8	24	10	32
8	11	8	25	8	10	14	14	15	31
15	<u>146</u>	14	10	14	17	15	26	16	25
22	14	15	10	15	26	16	18	17	11
29	26	16	12	16	59	17	57	23	15
		22	23	22	11	18	18	25	<u>511</u>
		24	<5	24	24	23	15		
						25	15		

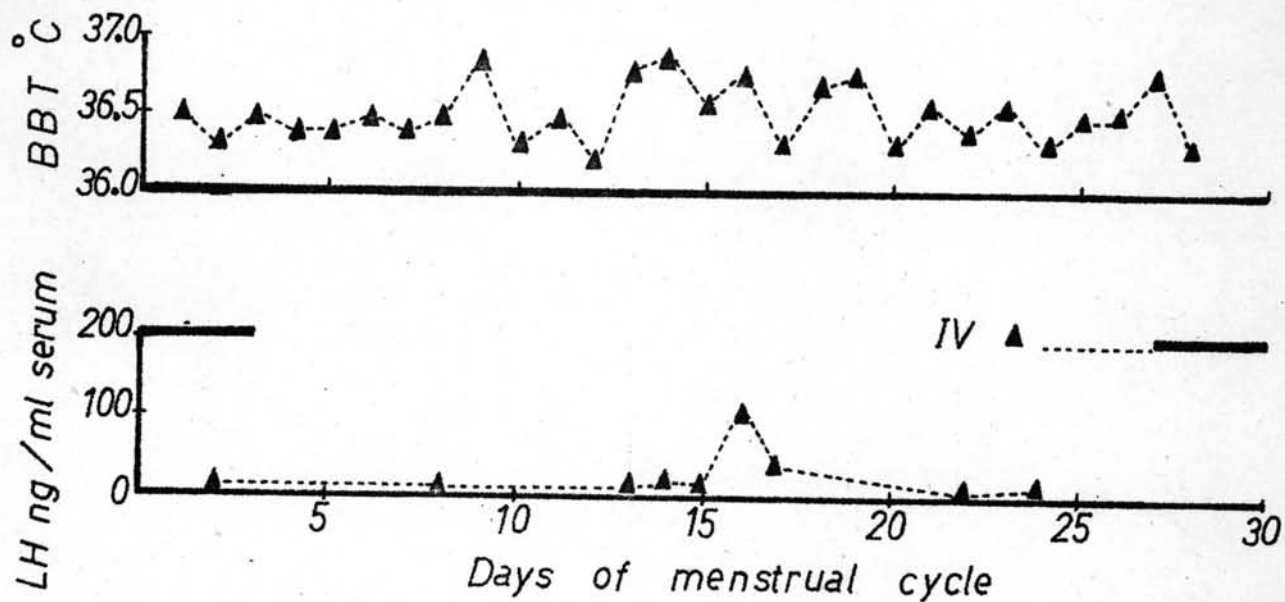
รูปที่ 30 ระดับ LH ในซีรัมใน 1 รอบเดือนของรายที่ 17



ตารางที่ 28 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 4 รอบเดือนของรายที่ 18 (ว.ท. อายุ 35 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	8	2	12	4	10	2	10	8	11
8	15	8	10	8	34	8	9	13	11
15	16	14	51	14	20	13	13	14	19
22	9	15	21	16	<5	14	16	15	13
29	13	16	18	17	9	15	16	16	42
				22	11	16	<u>113</u>	17	33
				24	<5	17	43	24	49
						22	9		
						24	18		

รูปที่ 31 ระดับ LH ในซีรัมใน 1 รอบเดือนของรายที่ 18



ตารางที่ 29 ปริมาณ LH ในซีรัมใน 5 รอบเดือนของรายที่ 19 (ป.ค. อายุ 18 ปี)

รอบเดือนที่ I		II		III		IV		V	
วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.	วันที่ของ รอบเดือน	LH นก./มล.
2	13	2	66	2	10	2	13	8	36
8	6	8	10	14	10	8	18	11	10
15	5	14	15	15	53	11	9	13	15
22	5	15	15	16	22	12	20	14	14
		16	15	22	20	13	23	15	10
		22	8	24	11	14	21	20	6
		24	11			15	29	22	5
						20	35		
						22	10		

14. Reliability ของวิธีทดลอง14.1 ความแม่นยำของวิธีทดลอง (precision)

ก. ความแตกต่างของปริมาณ LH ใน pooled serum เมื่อทำการทดลองพร้อมกันหลายๆ ตัวอย่าง (within assay)

ดำเนินการทดลองตามวิธีในข้อ 5.2 ก และ ข ทดลองกับ pooled serum 3 ชนิด แสดงปริมาณ LH ที่ได้จาก pooled serum ค่าเฉลี่ย, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และความผิดพลาดมาตรฐาน (SE) ในตารางที่ 32 ก และ ข

ตารางที่ 32 ก. ความแม่นยำของวิธีวัดปริมาณ LH ใน pooled serum หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน โดยเทคนิคการแยกด้วยผงถ่าน

pooled serum	IH (นาโนกรัม/มล.)	ค่าเฉลี่ย (นาโนกรัม/มล.)	\pm SD (นาโนกรัม/มล.)	\pm SE (นาโนกรัม/มล.)
ค่าสูง ตัวอย่างที่				
1	220			
2	280			
3	300			
4	286	264.5	± 26.6 (CV = 10.07%)	± 9.4
5	280			
6	255			
7	255			
8	240			

CV = Coefficient of Variation

pooled serum	LH (นาโนกรัม/มล.)	ค่าเฉลี่ย (นาโนกรัม/มล.)	\pm SD (นาโนกรัม/มล.)	\pm SE (นาโนกรัม/มล.)
<u>คากกลาง</u> <u>ตัวอย่างที่</u> 1 2 3 4 5 6 7 8	78.5 76.0 85.5 76.0 93.5 88.0 85.0 88.5	83.9	± 6.4 (CV = 7.65%)	± 2.3
<u>กาต่ำ</u> <u>ตัวอย่างที่</u> 1 2 3 4 5 6 7	19.5 10.0 12.5 11.0 18.0 13.5 15.0	14.2	± 3.5 (CV = 24.78%)	± 1.3

ตารางที่ 32 ข. ความแม่นยำของวิธีวัดปริมาณ LH ใน pooled serum หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน โดยเทคนิคการแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง

pooled serum	IH (นาโนกรัม/มล.)	ค่าเฉลี่ย (นาโนกรัม/มล.)	\pm SD (นาโนกรัม/มล.)	\pm SE (นาโนกรัม/มล.)
ค่าสูง ตัวอย่างที่				
1	316			
2	323			
3	302			
4	284			
5	291	301.6	± 15.9	± 5.0
6	315		(CV = 5.27%)	
7	304			
8	277			
9	288			
10	316			

pooled serum	IH (นาโนกรัม/มล.)	ค่าเฉลี่ย (นาโนกรัม/มล.)	\pm SD (นาโนกรัม/มล.)	\pm SE (นาโนกรัม/มล.)
ค่ากลาง ตัวอย่างที่				
1	120.0			
2	113.5			
3	78.0			
4	109.0			
5	114.0	109	± 12.5	± 4.0
6	107.5		(CV = 11.45%)	
7	111.5			
8	100.0			
9	121.0			
10	115.0			
ค่าต่ำ ตัวอย่างที่				
1	23			
2	19			
3	21			
4	9			
5	22	20.1	± 5.7	± 1.8
6	29		(CV = 28.28%)	
7	25			
8	13			
9	20			
10	20			

ข. ความแตกต่างของปริมาณ IH ใน pooled serum เมื่อทำการทดลองต่างวันกันเป็นเวลา 3 วัน (between assay)

ได้ทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีในข้อ 5.2 ก และ ข ต่างวันกัน 3 วัน ทั้งวิธีแยกด้วยผงถ่านและแอนติบอดีชนิดที่สอง เพื่อดูความแตกต่างของระดับความเข้มข้นของ IH ที่วัดได้ ผลการทดลองแสดงปริมาณ IH และค่าเฉลี่ยในแต่ละวัน ไว้ในตารางที่ 33 ก และ ข

ตารางที่ 33 ก. ความแม่นยำของวิธีวัดปริมาณ IH ใน pooled serum ต่างวัน 3 วัน โดยวิธีการแยกด้วยผงถ่าน

pooled serum	การทดลองวันที่ 1 IH (นาโนกรัม/มล.)	การทดลองวันที่ 2 IH (นาโนกรัม/มล.)	การทดลองวันที่ 3 IH (นาโนกรัม/มล.)
ค่าสูง ตัวอย่างที่			
1	240	277	248
2	220	316	247
3	280	260	286
4	300	240	280
5	286	285	260
6	280		
7	255		
8	255		
	264.5*	275.6*	264.2*

pooled serum	การทดลองวันที่ 1 IH (นาโนกรัม/มล.)	การทดลองวันที่ 2 IH (นาโนกรัม/มล.)	การทดลองวันที่ 3 IH (นาโนกรัม/มล.)
<u>ค่ากลาง</u> ตัวอย่างที่			
1	78.5	102.5	84.0
2	76.0	66.0	90.0
3	85.5	81.0	93.0 85.0*
4	76.0	55.0	75.5
5	93.5	77.5	82.5
6	88.0	72.5	
7	85.0	75.0	
8	88.5	94.0	
	83.9*	77.9*	
<u>ค่าต่ำ</u> ตัวอย่างที่			
1	19.5	13.5	16.0
2	10.0	12.5	15.5
3	12.5	13.0	9.0
4	11.0	11.0	12.0
5	15.0		
6	18.0		
7	13.5		
	14.2*	12.5*	13.1*

จากผลการทดลองทั้ง 3 วัน นำมาหาค่าความคลาดเคลื่อนทางสถิติได้ดังนี้

pooled serum	ค่าเฉลี่ย (\bar{X}) (นาโนกรัม/มล.)	\pm SD (นาโนกรัม/มล.)	\pm SE (นาโนกรัม/มล.)
ค่าสูง	268.1	\pm 6.5 (CV = 2.42%)	\pm 3.75
ค่ากลาง	82.3	\pm 3.8 (CV = 4.65%)	\pm 2.2
ค่าต่ำ	13.3	\pm 0.86 (CV = 6.50%)	\pm 0.5

ตารางที่ 33 ข. ความแม่นยำของวิธีวัดปริมาณ IH ใน pooled serum ต่างวัน 3 วัน โดยการแยกถ้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง

pooled serum	การทดลองวันที่ 1 IH (นาโนกรัม/มล.)	การทดลองวันที่ 2 IH (นาโนกรัม/มล.)	การทดลองวันที่ 3 IH (นาโนกรัม/มล.)
ค่าสูง ตัวอย่างที่			
1	316	292	275
2	323	285	320
3	302	280	276
4	284	272	293
5	291	290	311
6	315	300	317
7	304	303	309
8	277	274	306
9	288	310	322
10	316	263	287
	301.6*	286.9*	301.6*

pooled serum	การทดลองวันที่ 1 IH (นาโนกรัม/มล.)	การทดลองวันที่ 2 IH (นาโนกรัม/มล.)	การทดลองวันที่ 3 IH (นาโนกรัม/มล.)
<u>คากกลาง</u> ตัวอย่างที่			
1	120.0	122.5	99.0
2	113.5	115.0	92.5
3	78.0	127.0	112.5
4	109.0	125.0	95.0
5	114.0	123.5	
6	107.5	138.0	
7	111.5		
8	100.0		
9	121.0		
10	115.0		
	109*	125.3*	99.8*
<u>คาคั่ว</u> ตัวอย่างที่			
1	23.0	30.0	9.5
2	19.0	16.0	9.0
3	21.0	20.0	14.0
4	9.0	19.0	17.5
5	22.0	12.0	20.0
6	29.0	16.0	18.5
7	25.0	18.0	13.0
8	13.0	19.0	21.0
9	20.0	31.0	18.0
10	20.0	19.0	
	20.1*	20.0*	15.6*

จากผลการทดลองทั้ง 3 วันนำมาหาค่าความคลาดเคลื่อนทางสถิติได้ดังนี้

pooled serum	ค่าเฉลี่ย (\bar{X}) (นาโนกรัม/มล.)	\pm SD (นาโนกรัม/มล.)	\pm SE (นาโนกรัม/มล.)
ค่าสูง	291.5	\pm 9.2 (CV = 3.14%)	\pm 3.7
ค่ากลาง	111.4	\pm 12.9 (CV = 11.60%)	\pm 7.5
ค่าต่ำ	18.6	\pm 2.6 (CV = 13.84%)	\pm 1.48

14.2 Percentage recovery

การทำ percentage recovery เป็นการดูว่าวิธีทดลองนี้มีประสิทธิภาพ ความถูกต้องสูงเพียงใด ทำการทดลองตามวิธีในข้อ 5.2 ทั้งวิธีแยกด้วยผงถ่าน และแอนติบอดีชนิดที่สอง ในสภาวะสมดุล โดยการเติมสารละลายมาตรฐาน IH ปริมาณต่างๆกันลงใน pooled serum ซึ่งทราบปริมาณแน่นอน ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 34 ก และ ข

ตารางที่ 34 ก. percentage recovery ที่ได้จากการเติม IH ลงใน pooled serum โดยวิธีแยกด้วยผงถ่าน

ปริมาณฮอร์โมนเติมและ ปริมาณฮอร์โมนที่เติม (นาโนกรัม/มล.)	ปริมาณฮอร์โมน ที่วัดได้ (นาโนกรัม/มล.)	%recovery	%recovery เฉลี่ย	\pm SD	\pm SE
16.4	16.4	100.00			
22.7	21.6	95.15	98.30	\pm 2.19	\pm 1.06
35.2	34.8	98.86			
60.2	59.7	99.17			



ตารางที่ 34 ข. percentage recovery ที่ได้จากการเติม LH ลงใน pooled serum โดยวิธีแยกด้วยแอนติบอดีชนิดที่สอง

ปริมาณฮอร์โมนเติมและ ปริมาณฮอร์โมนที่เติม (นาโนกรัม/มล.)	ปริมาณฮอร์โมน ที่วัดได้ (นาโนกรัม/มล.)	%recovery	%recovery เฉลี่ย	+SD	+SE
19.0	20.9	110.00			
25.3	28.0	110.67	106.78	+4.09	+2.04
37.8	39.7	105.03			
62.8	63.7	101.43			