

## hLH [ <sup>125</sup>I ] IRMA készlet (REF: RK-750CT)

A hLH [<sup>125</sup>I] IRMA készlet humán szérum luteinizáló hormon (hLH) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 150 mIU/ml mérési tartományban.

### Bevezetés

A hLH (human luteinizáló hormon) vagy más néven lutropin kb. 30000-es molekulatömegű glikoprotein típusú hormon, amelyet az agyalapi mirigy sejteji választanak ki. Hasonlóan a többi glikoprotein hormonhoz (hFSH, hTSH, HCG) a hLH is két különböző alegységből tevődik össze, az α- és a β-láncból, amelyeket nem kovalens kötések kapcsolnak egybe. Az α-lánc aminosav sorrendje gyakorlatilag azonos mind a négy hormon esetében, miközben a β-láncok eltérő felépítésűek. Az egyes molekulák biológiai sajátosságaiért így a β-láncok a felelősek.

A hLH a nemi mirigyekre ható gonadotrop hormon.

Férfiak esetében az androgének szekrécióját serkenti, a női szervezetben a peteérés normális lefolyását és a sárgatest kifejlődését szabályozza.

A hipotalamusz - hipofízis - gonad szabályozórendszer zavarainak vizsgálatában a szérum hLH koncentrációjának mérése fontos információkkal szolgál.

### A mérés elve

A mérőkészlet a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) működési elvét alkalmazza. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitopját ismerik fel. A két antitest egyike radiojóddal jelzett (jelző antitest), a másikuk jelöletlen (ún. "capture" antitest).

A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. 2 órás reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsövekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő hormon koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs görbéről az ismeretlen minták koncentrációit kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

### A készlet tartalma

- 1 flakon <sup>125</sup>I-TRACER (21 ml), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 1 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 0,4; 2; 10; 40; 150 mIU/ml. WHO 2nd IS 80/552 -re kalibrálva.
- 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM, liofilizált, 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, rekonstituálható 1 ml desztillált vízzel. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag dobozban.

5. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, 700 ml desztillált vízzel hígítandó.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat  
1 db Használati utasítás

### A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörögző kikapcsoló; pipetták (0,1, 0,2 és 2 ml térfogatra, eldobható muanyag hegyekkel); rázógépj; kémcsőzáró muanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

#### Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismételő) pipetta; folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadékedénnyel, 2 ml adagolási térfogatra

### A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben az LH meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumot ne használjunk mérésre.

### A reagensek előkészítése, tárolása

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 700 ml desztillált vízhez. A hígított mosóoldatot 2-8°C -on tároljuk a készlet lejáratáig.

A liofilizált ellenőrző szérumot rekonstituáljuk 1 ml desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot 20 percig még ne használjuk fel. A rekonstituált oldat -20°C-on a készlet lejáratáig tárolható. A készlet többi komponense az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolható a készlet lejáratáig idején belül. A pontos lejáratáig idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

### A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két -két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérum (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 100 µl STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csöbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítos kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten.
5. Adjunk minden csövhöz 2 ml mosópuffert, majd a csőtartót fejjel

lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.

6. Ismételjük meg a mosási lépést kétszer, a 5.pontnak megfelelően.

7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1.Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

|   | T   | S1-S6 | C    | M    |
|---|-----|-------|------|------|
| Standard                                  |     | 100   |      |      |
| Ell. szérum                               |     |       | 100  |      |
| Minta                                     |     |       |      | 100  |
| Tracer                                    | 200 | 200   | 200  | 200  |
| Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten      |     |       |      |      |
| Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron |     |       |      |      |
| Mosópuffer                                |     | 2000  | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron |     |       |      |      |
| Mosópuffer                                |     | 2000  | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron |     |       |      |      |
| Mosópuffer                                |     | 2000  | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron |     |       |      |      |
| Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cso)    |     |       |      |      |
| Adatfeldolgozás                           |     |       |      |      |

### Az eredmények számítása

A számítás menetét jellemző mérési adatokkal szemléltetjük. A kapott számadatoknak, és a kalibrációs görbének hasonlítaniuk kell a 2. táblázathoz, illetve az 1. ábrához.

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Log-log papíron ábrázoljuk a standard koncentrációkhoz tartozó átlag cpm értékeket. Olvassuk le a mérendő minták koncentrációit a standard görbéről az átlag cpm értékek alapján.

Egyes adat-kiértékelésekhez, rendszerint minőségellenőrzési célból, szükség lehet a specifikus kötési értékekre. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az S1 beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

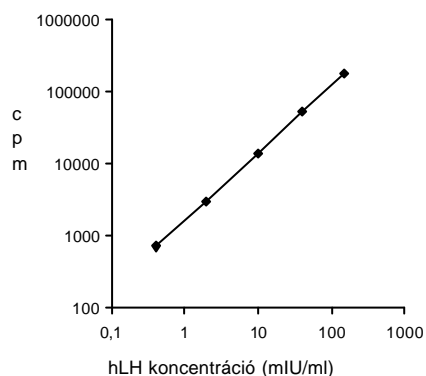
$$B/T (\%) = \frac{S2-6/Mx / (cpm) - S1(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

Egy jellegzetes mérési adatsort foglalj össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez speciálisan immunometrikus assayre kifejlesztett spline illesztő program használatát javasoljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valósak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység).

2.Táblázat Jellemző mérési eredmények

| Csővek | Beütés-szám<br>cpm | Átlag<br>cpm | B/T% |
|--------|--------------------|--------------|------|
| T      | 306942<br>306700   | 306821       | -    |
| S1     | 87<br>104          | 96           | 0,03 |
| S2     | 699<br>734         | 717          | 0,23 |
| S3     | 2957<br>2901       | 2929         | 0,95 |
| S4     | 14065<br>14110     | 14088        | 4,6  |
| S5     | 54103<br>54115     | 54109        | 17,6 |
| S6     | 175324<br>175144   | 175234       | 57,1 |
| C      | 11538<br>11337     | 11438        | 3,7  |



1. ábra

Tipikus standard görbe. (Mintameghatározásra nem használható!)

## Minoségi jellemzők

### Az assay jellemző paraméterei

|             |        |
|-------------|--------|
| $B_{max}/B$ | >1000  |
| NSB         | <0,05% |

### Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestekkel nem tapasztalható keresztreakció normál fiziológiás koncentrációban lévő hTSH, hFSH hormonokkal.

2000 mIU/ml hCG 3,5 mIU/ml látszólagos hLH szint emelkedést eredményez.

### Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 20 párhuzamos mérésből meghatározva < 0,02 mIU/ml. Értéke egyenlo a 0-standard  $B_0 + 2 \cdot SD$  kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

### Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérummintákhoz ismert mennyiségű hLH-t adva, a visszanyerés (recovery)  $98,6 \pm 4,3\%$  (közéérték  $\pm$  SD, n=9).

### Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 1000 mIU/ml alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 150-1000 mIU/ml tartományba esik, ezzel a készlettel mérve, a koncentrációját több mint 150 mIU/ml-nek fogjuk találni.

## Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamosan, 20 független mérésben értékelve, 4 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

| Intra-assay       |         | Inter-assay       |         |
|-------------------|---------|-------------------|---------|
| átlag<br>(mIU/ml) | CV<br>% | átlag<br>(mIU/ml) | CV<br>% |
| 52,3              | 0,7     | 0,2               | 12,1    |
| 29,9              | 1,0     | 6,5               | 3,1     |
| 6,6               | 1,4     | 29,2              | 3,1     |
| 0,2               | 9,3     | 51,8              | 2,8     |

### Várható referens tartomány

férfiak: 1,9 - 9,4 mIU/ml

nők: ovulációs csúcs: 25 - 94 mIU/ml

pre- és postovuláció: 0,7-9,0 mIU/ml

postmenopausa: 13 - 80 mIU/ml

A megadott referens tartomány csak tájékoztató adatnak tekintendő, és nem helyettesítheti a készletet felhasználó laboratóriumok saját területükre jellemző normálértékének megállapítását.

## Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közösleges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet! Ennek elkerülésére a muanyag dobozból soha ne vegyünk ki többet a szükséges mennyiségnél, illetve a felhasználatlan kémcsöveket azonnal tegyük vissza eredeti tartódobozukba. Ha az összekeverés veszélye a feldolgozás alatt is fennáll, célszerű a bevont csöveket más módon is megjelölni (pl. üvegre író tollal "meggyuruzni").

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsotartó használható, amelyben a csövek rögzítve vannak. "Lötyögős" állványban a kémcsövek tartalma egyáltalán nem, vagy egyenetlenül keveredik, annak ellenére, hogy maga az állvány, és a kémcsó mozgásban van. Egyenetlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis (fals alacsony!) mérési eredményekhez vezethet!

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezeto csovel felszerelt diszpenzerbol adagolható, amelyhez legalább 1 l-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csövéggel az asztalon fekvő kémcsóállvány fölött végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kelloen nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlo pipetta használható.

## Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó LH készletének komponenseivel.

## Biztonsági óvórendszabályok

### Radioaktivitás










A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során ill. a védőcsomagolás esetleges sérülése esetén a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

### Fertőzésveszély

A készletben lévő humán szérumot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumot tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

### Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 250 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belöle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

|   |  |   |                    |
|---|--|---|--------------------|
|  | Lejárat i do                           | <b>CONTROL</b>  | Kontrol            |
|  | Gyártási szám                          | <b>CAL</b>  | Standard           |
|  | Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok | <b>CT</b>   | Bevont cso         |
|  | Biológiai veszély                      | <b>TRAC</b>   | Tracer             |
|  | Lásd használati utasítás               | <b>WASHE</b>  | Mosópuffer         |
|  | In vitro diagnosztikai eszköz          |  | 2-8°C-on tárolandó |
|  | Gyártó                                 |   |                    |
| <b>REF</b>  | Katalógus szám                         |   |                    |
|  | Radioaktív anyag                       |   |                    |

WEB oldal: <http://www.izotop.hu>

Technikai e-mail: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

Kereskedelmi e-mail: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

IZOTÓP INTÉZET Kft.  
1535 Budapest, Pf.: 851.  
Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247

