

125
hLH [¹²⁵I] IRMA készlet
 (REF: RK-750CT)

A hLH [¹²⁵I] IRMA készlet humán szérumban 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 sejtjei 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 szérumban 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. 1 órás reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsővekben 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 ¹²⁵I-TRACER (21 ml), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 1 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, marhaszérumban. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 0,4; 2; 10; 40; 150 mIU/ml. WHO 2nd IS 80/552 -re kalibrálva.
- 1 üveg ELLENŐRZŐ 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 műanyag dobozban.

5. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,2 % 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 műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzározó műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadékdénnnyel, 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 lejárataig.

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 lejárataig tárolható. A készlet többi komponense az első felnyitást követően 2-8°C-on tárolható a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati 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. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen (min. 600 rpm). Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten.

5. Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csőtartót fejfelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülülőt, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.

6. Ismételjük meg a mosási lépést egyszer, 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, 1 óra szobahőmérsékleten				
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/cső)				
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:

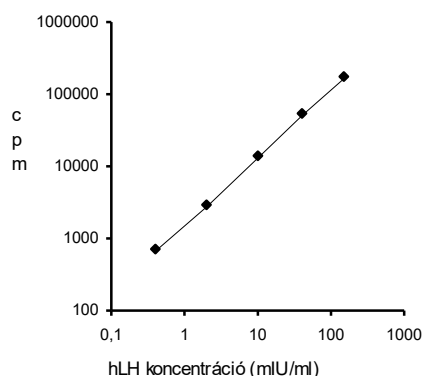
$$B/T (\%) = \frac{S2-6/Mx / (cpm) - S1(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

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

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") 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 cpm	Átlag cpm	B/T%
T	306942 306700	306821	-
S1	87 104	96	0,03
S2	699 734	717	0,23
S3	2957 2901	2929	0,95
S4	14065 14110	14088	4,6
S5	54103 54115	54109	17,6
S6	175324 175144	175234	57,1
C	11538 11337	11438	3,7



1. ábra

Tipikus standard görbe, (Mintameghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T < 0,1%

Specificitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestekkel nem tapasztalható keresztreakció normál fiziológiás koncentrációban levő 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 < 0,05 mIU/ml. Értéke egyenlő a 0-standard B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérummintákhoz ismert mennyiségű hLH-t adva, a visszanyerés (recovery) 98,6 ± 4,3% (közéérték ± 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 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 20 független mérésben értékelve, 4 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (mIU/ml)	CV %	átlag (mIU/ml)	CV %
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

Hígítási teszt:

3 egyéni szérumminta nulla standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt (x) és a mért (y) koncentráció érték között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$y = 0,9688x + 0,1455 \quad R = 0,9986 \quad n=12$$

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. Közöséges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet! Ennek elkerülésére a műanyag 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 "meggyűrűzni").

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

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerekből adagolható, amelyhez legalább 1 l-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölött végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kellően nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlődő 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.

A szarvasmarhából származó komponensek olyan országokból származnak, amelyekben szivacsos szarvasmarha agyvelőgyulladásos eseteket nem regisztráltak. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reagenseket **potenciálisan fertőzőként kell kezelni!**

Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 68 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle 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 idő

CONTROL

Kontrol



Gyártási szám

CAL

Standard



Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok

CT

Bevont cső



Biológiai veszély

TRAC

Tracer



Lásd használati utasítás

WASHB

Mosópuffer



In vitro diagnosztikai eszköz

2-8°C

2-8°C-on tárolandó



Gyártó

REF

Katalógus szám



Radioaktív anyag



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

Technikai e-mail: mailto:immuno@izotop.hu

Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP

IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247