



# **LHsp-IRMA**

***KIP1311 – KIP1314***

**Distributed By:**

Immuno-Biological Laboratories, Inc. (IBL-America)

8201 Central Ave. NE, Suite P

Minneapolis, Minnesota 55432, USA

Phone: (888) 523-1246

Fax.: (763) 780-2988

Email: [info@ibl-america.com](mailto:info@ibl-america.com)

Web: [www.ibl-america.com](http://www.ibl-america.com)



Read entire protocol before use.

## LHsp-IRMA

### *I. INTENDED USE*

Immunoradiometric assay kit for the *in vitro* quantitative measurement of human Luteinizing Hormone (LH) in serum.

### *II. GENERAL INFORMATION*

- A. Proprietary name :** DIAsource LHsp-IRMA Kit
- B. Catalog number :** KIP1311: 96 tests  
KIP1314: 4x96 tests
- C. Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

**For technical assistance or ordering information contact :**  
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.90

### *III. CLINICAL BACKGROUND*

#### *A. Biological Activity*

Both LH and FSH are secreted by the basophil cells of the anterior pituitary as a result of gonadotropin releasing hormone (GnRH) secretion from hypothalamic cells.  
In adults, LH and FSH hormones control gonadal functions; mainly gametogenesis and steroid secretion.


#### *B. Clinical Application*

The measurement of LH and FSH concentrations in serum is essential for investigating fertility and especially disorders of the hypothalamic/pituitary/gonadal axis.  
The LHsp-IRMA is a one step assay which is specific for LH. This specific assay enables the measurement of LH concentrations in serum, irrespective of the presence of hCG from endogenous (pregnancy or ectopic tumor) or exogenous origin (*in vitro* fertilization program, with pregnyl injection).

#### IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIASource LHsp-IRMA is an immunoradiometric assay based on coated tube separation. Mabs1, the capture antibodies, are attached to the lower and inner surface of the plastic tube. Calibrators or samples added to the tubes will at first show low affinity for Mabs1. Addition of Mab2, the signal antibody labelled with  $^{125}\text{I}$ , will complete the system and trigger the immunological reaction. After washing, the remaining radioactivity bound to the tube reflects the antigen concentration. The use of several distinct Mabs avoids hyperspecificity.

#### V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	Quantity 96 tests	Quantity 4x96 tests	Colour Code	Reconstitution			
 Tubes coated with anti LH (monoclonal antibodies)	2 x 48	8 x 48	blue	Ready for use			
<table border="1" data-bbox="65 667 196 712"> <tr> <td>Ab</td> <td><math>^{125}\text{I}</math></td> </tr> </table> Anti-LH- $^{125}\text{I}$ (monoclonal antibodies) in TRIS-HCl Buffer with bovine serum albumin, sodium azide (<0.1 %) and inert red dye	Ab	$^{125}\text{I}$	1 vial 5.5 ml 700 kBq	4 vials 5.5 ml 4x700 kBq	red	Ready for use	
Ab	$^{125}\text{I}$						
<table border="1" data-bbox="65 846 196 891"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Zero Calibrator in bovine serum with thymol	CAL	0	1 vial lyophil.	2 vials lyophil.	yellow	Add 2 ml distilled water	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="65 958 196 1003"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Calibrators 1-6 in bovine serum with thymol (see exact values on vial labels)	CAL	N	6 vials lyophil.	12 vials lyophil.	yellow	Add 1 ml distilled water	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="65 1093 276 1137"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Wash solution (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	4 vials 10 ml	brown	Dilute 70x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="65 1227 276 1272"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Controls 1 and 2 in human serum with thymol	CONTROL	N	2 vials lyophil.	4 vials lyophil.	silver	Add 0.5 ml distilled water	
CONTROL	N						

Note: 1. Use the zero calibrator for sera dilutions.  
2. 1 mIU of the calibrator preparation is equivalent to 1 mIU of 2<sup>nd</sup> IRP 80/552.

#### VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

- Distilled water
- Pipettes for delivery of: 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 500  $\mu\text{l}$ , 1 ml and 2 ml. (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- Tube shaker
- 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
- Aspiration system (optional).
- Any gamma counter capable of measuring  $^{125}\text{I}$  may be used (minimal yield 70%).

#### VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators** : Reconstitute the zero calibrator with 2 ml distilled water and the other calibrators with 1 ml distilled water..
- Controls** : Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- Working Wash solution** : Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

#### VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable for 3 days at 2-8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximum 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

#### IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- § Serum must be kept at 2 – 8°C.
- § If the test is not run within 24 hours, storage at -20°C is recommended.
- § Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

#### X. PROCEDURE

##### A. Handling notes

Do not use the kit or components beyond expiry date. Do not mix materials from different kit lots. Bring all the reagents to room temperature prior to use. Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling. In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision. Respect the incubation times. Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

##### B. Procedure

- Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For determination of total counts, label 2 normal tubes.
- Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 100  $\mu\text{l}$  of each into the respective tubes.
- Dispense 50  $\mu\text{l}$  of anti-LH- $^{125}\text{I}$  tracer into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
- Shake the rack containing the tubes gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
- Incubate for 1 hour at room temperature on a tube shaker (700 rpm).
- Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
- Wash the tubes with 2 ml Wash Solution (except total counts). Avoid foaming during the addition of the Working Wash Solution.
- Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts).
- Wash again the tubes with 2 ml Wash Solution (except total counts) and aspirate (or decant).
- After the last washing, let the tubes standing upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
- Count the tubes in a gamma counter for 60 seconds.

#### XI. CALCULATION OF RESULTS

- Calculate the mean of duplicate determinations.
- On semi logarithmic or linear graph paper plot the c.p.m. (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of LH (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points, reject the obvious outliers.
- Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve.
- Computer assisted data reduction will simplify these calculations. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.

### XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

LHsp-IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		246440	100
Calibrator	0.0 mIU/ml	207	0.1
	1.8 mIU/ml	533	0.2
	3.5 mIU/ml	1165	0.5
	9.9 mIU/ml	3821	1.6
	30.0 mIU/ml	12920	5.2
	97.0 mIU/ml	50053	20.3
	194.0 mIU/ml	93732	38.0

### XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

#### A. Detection Limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations above the average counts at zero binding, was 0.2 mIU/ml.

#### B. Specificity

Cross-reactive hormones were added to a low and to a high LH value calibrator. The apparent LH response was measured.

added Hormone	LHsp CAL 1 mIU/ml	LHsp CAL 5 mIU/ml
-	1.8	97
FSH 300 mIU/ml	1.6	87
hCG 300000 mIU/ml	2.4	85
TSH 300 µIU/ml	3.6	100

#### C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± S.D. mIU/ml	CV (%)	Serum	N	<X> ± S.D. (mIU/ml)	CV (%)
A	10	6.6 ± 0.3	3.9	C	20	5.9 ± 0.5	8.0
B	10	49.6 ± 0.7	1.4	D	20	56.7 ± 1.9	3.4

#### D. Accuracy

RECOVERY TEST			
Sample	Added LH (mIU/ml)	Recovered LH (mIU/ml)	Recovery (%)
1	0.5	0.7	130
	1.5	1.8	117
	5	4.5	89
	14	12.7	90
	46	46.1	100
2	0.5	0.7	140
	1.5	1.3	87
	5	4.7	94
	14	12.9	92
	46	43.8	95

### DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (mIU/ml)	Measured Concent. (mIU/ml)
1	1/1	-	79.7
	1/2	39.9	41.1
	1/4	19.9	19.9
	1/8	10.0	10.1
	1/16	5.0	5.3
	1/32	2.5	2.2
2	1/1	-	121.0
	1/2	60.5	53.0
	1/4	30.3	27.9
	1/8	15.1	14.9
	1/16	7.6	7.8
	1/32	3.8	3.8

Samples were diluted with zero calibrator.

#### E. Time Delay

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 30 minutes after the calibrator has been added to coated tubes.

### TIME DELAY

	0'	30'
Sample 1 (mIU/ml)	2.2	2.3
Sample 2 (mIU/ml)	4.8	5.4
Sample 3 (mIU/ml)	53.6	54.6

#### F. Hook effect

A sample spiked with LH up to 1700 mIU/ml gives a signal above the highest calibrator concentration.

### XIV. LIMITATIONS

- Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits which employ mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with in vitro immunoassays. Patients routinely exposed to animals or animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed in case of the presence of heterophilic antibodies. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies. If results are not consistent with other clinical observations, additional information should be required before diagnosis.

### XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practices

### XVI. REFERENCE INTERVALS

The values provided below are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

The range is expressed as 2.5% to 97.5% percentiles.

Identification	Number of subjects	Mean (mIU/ml)	Range (mIU/ml)
<b>Children (0 to 12 years)</b>			
§ Boys	20	0.2	0.0 – 1.4
§ Girls	20	0.4	0.0 – 0.9
<b>Pubers (12 to 18 years)</b>	18	2.9	0.1 – 10.6
<b>Adult males</b>	69	2.7	1.0 – 5.3

<b>Women</b>			
Ovulatory cycles			
- Follicular phase (day -12 to -6)	34	4.3	0.8 – 10.4
- Ovulatory peak (day 0)	49	19.6	2.9 – 41.1
- Luteal phase (day +6 to +12)	63	3.3	0.5 – 7.6
Postmenopausal	53	31.2	14.4 – 52.8

## XVII. PRECAUTIONS AND WARNINGS

### Safety

For in vitro diagnostic use only.

This kit contains <sup>125</sup>I (half-life: 60 days) ,emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

## XVIII. BIBLIOGRAPHY

- CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)  
**Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.**  
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1
- FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)  
**Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136
- MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)  
**Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109
- SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)  
**Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.**  
J. Reprod. Fertil., 65:45
- THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)  
**Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.**  
Clin. Chem., 34:768

- LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)  
**Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.**  
Fertil. and Steril., 51:105
- VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)  
**Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.**  
Clin. Chem., 37:415
- DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)  
**Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.**  
Fertil. and Steril., 55:796
- MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)  
**Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.**  
Biol. of the Neonat., 61:150
- DE HERTOIGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)  
**Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.**  
Hum. Reprod., 7:337

## XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S) CONTROLS ml
Calibrators (0-6) Samples, controls Tracer	- 0.05	0.1 - 0.05	- 0.1 0.05
Incubation	1 hour at room temperature with shaking at 700 rpm		
Separation Washing solution Separation Washing solution Separation	- - - - -	aspirate (or decant) 2.0 aspirate (or decant) 2.0 aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIAsource Catalogue Nr : KIP1311 - KIP1314	P.I. Number : 1700517/en	Date of issue : 110218/1
---	-----------------------------	-----------------------------

Revision date : 2011-02-18



Lire entièrement le protocole avant utilisation.

# LHsp-IRMA

## **I. BUT DU DOSAGE**

Trousse de dosage radio-immunologique pour la mesure quantitative *in vitro* de l'Hormone de Lutéinisation (LH) dans le sérum humain.

## **II. INFORMATIONS GENERALES**

- A. Nom du produit :** DIASource LHsp-IRMA kit
- B. Numéro de catalogue :** KIP1311 : 96 Tests  
KIP1314: 4x96 Tests
- C. Fabriqué par :** DIASource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

**Pour une assistance technique ou une information sur une commande :**

**Tel : +32 (0)10 84.99.11**

**Fax : +32 (0)10 84.99.90**

## **III. CONTEXTE CLINIQUE**

### **A. Activité biologique**

La LH ainsi que la FSH sont sécrétées par les cellules basophiles de l'hypophyse antérieure par suite de la sécrétion de la « gonadotrophine releasing hormone (GnRH) » par des cellules hypothalamiques. Chez des adultes, les hormones LH et FSH contrôlent des fonctions gonadiques; surtout la gamétogénèse et la sécrétion des stéroïdes.


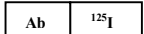

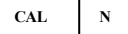

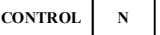
### **B. Clinical Application**

La mesure des concentrations en LH et en FSH dans le sérum est essentielle pour l'investigation de la fertilité et, en particulier, des dysfonctionnements de l'axe hypothalamique/hypophysaire/gonadique. Le LHsp-IRMA est une trousse à phase unique qui est spécifique pour la LH. Cette trousse spécifique rend possible la mesure des concentrations en LH dans le sérum, indépendamment de la présence de hCG d'origine endogène (grossesse ou tumeur ectopique) ou exogène (programme de fertilisation *in vitro*, avec injection de pregnyl).

#### IV. PRINCIPES DU DOSAGE

La trousse DIASource LHsp-IRMA est une trousse de dosage radio-immunologique basée sur la séparation en tube recouvert d'anticorps. Mabs1, les anticorps de capture, sont attachés sur la surface basse et interne du tube plastique. Les calibrateurs ou les échantillons ajoutés dans les tubes présenteront dans un premier temps une faible affinité pour Mabs1. L'addition de Mab2, l'anticorps signal marqué avec l'<sup>125</sup>I, complètera le système et déclenchera la réaction immunologique. Suite au lavage, la radioactivité restante liée au tube reflètera la concentration de l'antigène. L'utilisation de plusieurs Mabs différents évite l'hyperspécificité, commune aux IRMA deux-sites.

#### V. REACTIFS FOURNIS

Reactifs	96 tests Kit	4x96 tests Kit	Code Couleur	Reconstitution
 Tubes recouverts avec l'anti LH (anticorps monoclonal)	2 x 48	8 x 48	Bleu	Prêt à l'emploi
 Ab <sup>125</sup> I TRACEUR: anti - LH marquée à l' <sup>125</sup> Iodine (anticorps monoclonaux) dans un tampon TRIS-HCl avec de l'albumine bovine, de l'azide de sodium (<0,1%) et un colorant rouge inactif	1 flacon 5,5 ml 700 kBq	4 flacons 5,5 ml 4x700 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi
 CAL 0 Calibrateur zéro dans du sérum bovin et du thymol	1 flacon lyophilisé	2 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 2 ml d'eau distillée
 CAL N Calibrateur N = 1 à 6 (cfr. Valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum bovin et du thymol	6 flacons lyophilisés	12 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 1 ml d'eau distillée
 WASH SOLN CONC Solution de Lavage (Tris-HCl)	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	Brun	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
 CONTROL N Contrôles - N = 1 ou 2 dans du sérum humain avec du thymol	2 flacons lyophilisés	4 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée

Note:

- Utiliser le calibrateur zéro pour la dilution des échantillons.
- 1 mIU de la préparation du calibrateur est équivalent à 1 mIU de 2<sup>nd</sup> IRP 80/552.

#### VI. MATERIELS NON FOURNIS

Le matériel mentionné ci-dessous est requis mais non fourni avec la trousse:

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer: 50 µl, 100 µl, 500 µl, 1 ml et 2 ml (l'utilisation de pipettes précises et de pointes en plastique est recommandée)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Agitateur de tubes
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d'aspiration (optionnel)
- Tout compteur gamma capable de mesurer l'<sup>125</sup>I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

#### VII. PREPARATION DES REACTIFS

- Calibrateurs** : Reconstituer le calibrateur zéro avec 2 ml d'eau distillée et les autres calibrateurs avec 1 ml d'eau distillée.
- Contrôles** : Reconstituer les contrôles avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Solution de Lavage** : Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

#### VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date d'expiration, indiquée sur l'étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Après reconstitution, les calibrateurs et les contrôles sont stables pendant 3 jours entre 2 et 8 °C. Pour de plus longues périodes de stockage, des aliquots devront être réalisés et ceux-ci seront gardés à -20°C, pendant 3 mois. Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- La Solution de Lavage préparée doit être utilisée le jour même.
- Après la première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration, si celui-ci est conservé entre 2 et 8°C dans le flacon d'origine correctement fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

#### IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons de sérum doivent être gardés entre 2 et 8°C.
- Si le test n'est pas réalisé dans les 24 heures, un stockage à -20°C est recommandé.
- Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.

#### X. MODE OPERATOIRE

##### A. Notes de manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d'expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousses de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Mélangez tous les réactifs et les échantillons sous agitation douce. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette pour l'addition de chaque réactif et échantillon. Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d'augmenter la précision. Respecter les temps d'incubation. Préparer une courbe de calibration pour chaque nouvelle série d'expériences, ne pas utiliser les données d'expériences précédentes.

##### B. Mode opératoire

- Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse, en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts d'anticorps.
- Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Puis distribuer 100 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.
- Distribuer 50 µl de traceur dans chaque tube.
- Agiter légèrement le portoir de tube manuellement pour libérer toute bulle d'air emprisonnée.
- Incuber pendant 1 heure à température ambiante sous agitation continue (700 rpm).
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
- Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale).
- Laver les tubes à nouveau avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer (ou décanter).
- Après le dernier lavage, laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer (ou décanter) le reste de liquide.
- Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

#### XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Dessiner sur un graphique linéaire ou semi-logarithmique les cpm (ordonnées) pour chaque calibrateur contre la concentration correspondant en LH (abscisses) et dessiner une courbe de calibration à l'aide des points de calibration, écarter les valeurs aberrantes.
- Lire la concentration pour chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe de calibration.
- L'analyse informatique des données simplifiera les calculs. Si un système d'analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.



## XII. DONNEES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont fournies pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d'une courbe de calibration.

LHsp-IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		246440	100
Calibrateur	0,0 mIU/ml	207	0,1
	1,8 mIU/ml	533	0,2
	3,5 mIU/ml	1165	0,5
	9,9 mIU/ml	3821	1,6
	30,0 mIU/ml	12920	5,2
	97,0 mIU/ml	50053	20,3
	194,0 mIU/ml	93732	38,0

## XIII. PERFORMANCE ET LIMITES

### A. Sensibilité

Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d'autres calibrateurs. La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 déviations standards au-dessus de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de 0,2 mIU/ml.

### B. Spécificité

Des hormones cross-réactives ont été ajoutées à un calibrateur à valeur LH basse et à un calibrateur à valeur LH haute. La réponse LH apparente a été mesurée.

Hormone ajoutée	LHsp CAL 1 mIU/ml	LHsp CAL 5 mIU/ml
-	1,8	97
FSH 300 mIU/ml	1,6	87
hCG 300000 mIU/ml	2,4	85
TSH 300 µIU/ml	3,6	100

### C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)
A	10	6,6 ± 0,3	3,9	C	20	5,9 ± 0,5	8,0
B	10	49,6 ± 0,7	1,4	D	20	56,7 ± 1,9	3,4

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

### D. Exactitude

#### TEST DE RECUPERATION

Echantillon	LH ajoutée (mIU/ml)	LH récupérée (mIU/ml)	Récupération (%)
1	0,5	0,7	130
	1,5	1,8	117
	5	4,5	89
	14	12,7	90
	46	46,1	100
2	0,5	0,7	140
	1,5	1,3	87
	5	4,7	94
	14	12,9	92
	46	43,8	95

#### TEST DE DILUTION

Echantillon	Dilution	Concent. théorique (mIU/ml)	Concent. Mesurée (mIU/ml)
1	1/1	-	79,7
	1/2	39,9	41,1
	1/4	19,9	19,9
	1/8	10,0	10,1
	1/16	5,0	5,3
	1/32	2,5	2,2
2	1/1	-	121,0
	1/2	60,5	53,0
	1/4	30,3	27,9
	1/8	15,1	14,9
	1/16	7,6	7,8
	1/32	3,8	3,8

Les échantillons ont été dilués avec le calibrateur zéro.

### E. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l'échantillon

Comme montré ci-dessous, les résultats d'un essai restent précis même quand un échantillon est distribué 30 minutes après que le calibrateur a été ajouté aux tubes avec l'anticorps.

DELAI		
	0'	30'
Echantillon 1 (mIU/ml)	2,2	2,3
Echantillon 2 (mIU/ml)	4,8	5,4
Echantillon 3 (mIU/ml)	53,6	54,6

### F. Effet crochet

Un échantillon dopé avec du LH jusqu'à 1700 mIU/ml donne des cpm supérieurs au dernier point de calibration.

## XIV. CÔNTRÔLE DE QUALITE INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le(s) contrôle(s) 1 et/ou 2 ne sont pas dans l'intervalle spécifié sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l'on ait donné une explication satisfaisante de la non-conformité.
- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d'échantillons contrôlés, lesquels doivent être congelés aliquotés.
- Les critères d'acceptation pour les écarts des valeurs in duplo des échantillons doivent être basés sur les pratiques de laboratoire courantes.

## XV. VALEURS ATTENDUES

Les valeurs sont données à titre d'information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.

L'intervalle est basé sur les percentiles de 2,5% & 97,5%.

Identification	Nombre de sujets	Moyen (mIU/ml)	Portée (mIU/ml)
<b>Enfants (0 à 12 ans)</b>			
§ Garçons	20	0,2	0,0 – 1,4
§ Filles	20	0,4	0,0 – 0,9
<b>Adolescents (12 à 18 ans)</b>			
	18	2,9	0,1 – 10,6
<b>Adultes masculins</b>			
	69	2,7	1,0 – 5,3
<b>Femmes</b>			
. Cycles ovariens			
- Phase folliculaire (jour -12 à -6)	34	4,3	0,8 – 10,4
- Jour sommet (jour 0)	49	19,6	2,9 – 41,1
- Phase lutéale (jour +6 à +12)	63	3,3	0,5 – 7,6
. Postménopausique	53	31,2	14,4 – 52,8

## XVI. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

### Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.

Cette trousse contient de  $^{125}\text{I}$  (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et  $\gamma$  (35.5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.

Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.

Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité.

Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.

L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

## XVII. BIBLIOGRAPHIE

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)  
**Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.**  
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1
2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)  
**Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136
3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)  
**Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109
4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)  
**Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.**  
J. Reprod. Fertil., 65:45
5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)  
**Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.**  
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)  
**Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.**  
Fertil. and Steril., 51:105
7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)  
**Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.**  
Clin. Chem., 37:415
8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)  
**Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.**  
Fertil. and Steril., 55:796
9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)  
**Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.**  
Biol. of the Neonat., 61:150
10. DE HERTOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)  
**Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.**  
Hum. Reprod., 7:337

## XVIII. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (ml)	CALIBRATEURS (ml)	ECHANTILLON(S) CONTROLES (ml)
Calibrateurs (0-6)	-	0,1	-
Echantillons, Contrôles	-	-	0,1
Traceur	0,05	0,05	0,05
Incubation	1 heure à T.A. sous agitation continue		
Séparation	-	Aspiration	
Solution de Lavage	-	2,0	
Séparation	-	aspiration	
Solution de Lavage	-	2,0	
Séparation	-	aspiration	
Comptage	Temps de comptage des tubes: 60 secondes		

DIASource Catalogue Nr : KIP1311 – KIP1341	P.I. Number : 1700517/fr	Revision nr : 110218/1
---	-----------------------------	---------------------------

Date de révision : 2011-02-18

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

## LHsp-IRMA

### **I. VERWENDUNGSZWECK**

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem luteinisierendes Hormon (LH) in Serum.

### **II. ALLGEMEINE INFORMATION**

- A. Handelsbezeichnung :** DIAsource LHsp-IRMA Kit
- B. Katalognummer :** KIP1311 : 96 Tests  
KIP1314: 4x96 Tests
- C. Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

**Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:**

**Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.90**

**Für Deutschland : Kostenfreie Rufnummer : 0800 1 00 85 74 - Kostenfreie Faxnummer : 0800 1 00 85 75**

**E-mail Ordering : [ordering@diasource.be](mailto:ordering@diasource.be)**

### **III. KLINISCHER HINTERGRUND**

#### **A. Biologische Aktivität**

LH und FSH werden nach Ausschüttung von Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) durch den Hypothalamus in den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet. Beim Erwachsenen steuern die Hormone LH und FSH die Gonadenfunktionen, vor allem die Gametogenese und die Steroidsekretion.

#### **B. Klinische Anwendung**

Die Messung der LH und FSH-Konzentrationen im Serum ist bei der Untersuchung der Fertilität und vor allem von Störungen der Hypothalamus/Hypophyse/Gonaden-Achse unerlässlich. Der LHsp-IRMA ist für LH spezifischer Einschrittassay. Dieser spezifische Assay ermöglicht die Messung von LH-Konzentrationen im Serum, ungeachtet der Anwesenheit von hCG endogenen (Schwangerschaft oder ektopischer Tumor) oder exogenen Ursprungs (*in vitro* Fertilisierungsprogramm mit Pregnyl-Injektion).

#### IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Der DIASource LHsp-IRMA ist ein Radioimmuno-Assay in beschichteten Röhrchen. Mabs1, die Fänger-Antikörper, haften an der unteren inneren Oberfläche des Plastikröhrchens. In die Röhrchen zugegebene Kalibratoren oder Proben zeigen zuerst eine niedrige Affinität zu Mabs1. Zugabe von Mab2, das mit <sup>125</sup>I markierten Signalantikörpers, vervollständigt das System und triggert die immunologische Reaktion. Nach dem Waschen gibt die verbleibende, an den Röhrchen haftende Radioaktivität die Antigenkonzentration wieder. Die Verwendung einiger unterschiedlicher Mabs vermeidet die sonst bei zweiseitigem IRMA auftretende Hyperspezifität.

#### V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Test Kit	4x96 Test Kit	Farb Code	Rekonstitution			
Mit anti LH-beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	2 x 48	8 x 48	blau	gebrauchsfertig			
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>Ab</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> TRACER: <sup>125</sup> Iodmarkierter Anti-LH (monoklonale Antikörper) in TRIS-HCl puffer mit Rinderserum- albumin, Azid (<0,1%) und inertem roten Farbstoff	Ab	<sup>125</sup> I	1 Gefäß 5,5 ml 700 kBq	4 Gefäße 5,5 ml 4x700 kBq	rot	gebrauchsfertig	
Ab	<sup>125</sup> I						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Null Kalibrator in Rinderserum mit Thymol	CAL	0	1 Gefäß lyophil.	2 Gefäße lyophil.	gelb	2 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	0						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibrator - N = 1 to 6 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Rinderserum mit Thymol	CAL	N	6 Gefäße lyophil.	12 Gefäße lyophil.	gelb	1 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Waschlösung (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	4 Gefäße 10 ml	braun	70 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kontrollen - N = 1 or 2 Humanserum mitThymol	CONTROL	N	2 Gefäße lyophil.	4 Gefäße lyophil.	silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N						

#### Bemerkung:

1. Benutzen Sie Null Kalibrator zur Probenverdünnung.
2. 1 mIU der Standardzubereitung ist äquivalent zu 1 mIU 2<sup>nd</sup> IRP 80/552.

#### VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, wird aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

1. Dest. Wasser
2. Pipetten: 50 µl, 100 µl, 500 µl, 1 ml und 2 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Wegwerf-Plastikspitzen wird empfohlen)
3. 5 ml automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen
4. Absaugsystem (optional)
5. Vortex Mixer
6. Magnetrührer
7. Schüttler für Röhrchen
8. Jegl. Gamma-Counter, der 125I messen kann, kann verwendet werden. (minimal Yield 70%)

#### VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. Kalibratoren :** Rekonstituieren Sie den Null Kalibrator mit 2 ml dest. Wasser, die anderen Kalibratoren mit 1 ml dest. Wasser.
- B. Kontrollen :** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml dest. Wasser.
- C. Waschlösung:** Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (70x) mit 69 Anteilen dest. Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Verwerfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages.

#### VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen oder Rekonstitution sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2°C bis 8°C stabil.
- Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren und Kontrollen bei 2°C bis 8°C 3 Tage stabil. Aliquots müssen bei längerer Aufbewahrung bei -20°C eingefroren werden, dann sind sie 3 Monate haltbar. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.
- Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Aufbewahrung im Originalgefäß und bei 2° bis 8° C bis zum Ablaufdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

#### IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serumproben müssen bei 2 – 8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung bei -20°C erforderlich.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

#### X. DURCHFÜHRUNG

##### A. Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.

Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Wegwerf-Pipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.

Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Standardkurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

##### B. Durchführung

1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
2. Vortexen Sie Kalibratoren, Kontrollen und Proben kurz und geben Sie jeweils 100 µl in ihre Röhrchen.
3. Geben Sie 50 µl des Tracers in jedes Röhrchen.
4. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
5. Inkubieren Sie 1 Stunde bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln (700 rpm)
6. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
7. Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
8. Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab.
9. Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
10. Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
11. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter 60 Sekunden aus.

#### XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
2. Tragen Sie auf semilogarithmischem oder linearem Millimeterpapier den c.p.m. (Ordinate) für jeden Standard gegen die entsprechende Konzentration LH (Abszisse) und zeichnen Sie eine Standardkurve durch die Standardpunkte, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
3. Berechnen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation aus der Standardkurve.
4. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer „4 Parameter“-Kurvenfunktion.

## XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitstandardkurve verwendet werden.

LHsp-IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität		246440	100
Kalibrator	0,0 mIU/ml	207	0,1
	1,8 mIU/ml	533	0,2
	3,5 mIU/ml	1165	0,5
	9,9 mIU/ml	3821	1,6
	30,0 mIU/ml	12920	5,2
	97,0 mIU/ml	50053	20,3
	194,0 mIU/ml	93732	38,0

## XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

### A. Nachweisgrenze

Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.

Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswert bei Nullbindung, entsprach 0,2 mIU/ml.

### B. Spezifität

Kreuzreaktive Hormone wurden zu einem minderwertigen und zu einem hochwertigen Kalibrator zugegeben. Das Scheinbare LH Ergebnis wurde gemessen.

zugegeben Hormone	LHsp CAL 1 mIU/ml	LHsp CAL 5 mIU/ml
-	1,8	97
FSH 300 mIU/ml	1,6	87
hCG 300000 mIU/ml	2,4	85
TSH 300 µIU/ml	3,6	100

### C. Präzision

INTRA ASSAY

INTER ASSAY

Serum	INTRA ASSAY			INTER ASSAY			
	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)
A	10	6,6 ± 0,3	3,9	C	20	5,9 ± 0,5	8,0
B	10	49,6 ± 0,7	1,4	D	20	56,7 ± 1,9	3,4

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

### D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST

Probe	Zugeg. LH (mIU/ml)	Wiedergef. LH (mIU/ml)	Wiedergefunden (%)
1	0,5	0,7	130
	1,5	1,8	117
	5	4,5	89
	14	12,7	90
	46	46,1	100
2	0,5	0,7	140
	1,5	1,3	87
	5	4,7	94
	14	12,9	92
	46	43,8	95

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünn.	Theoret. Konzentr. (mIU/ml)	Gemess. Konzentr. (mIU/ml)
1	1/1	-	79,7
	1/2	39,9	41,1
	1/4	19,9	19,9
	1/8	10,0	10,1
	1/16	5,0	5,3
	1/32	2,5	2,2
2	1/1	-	121,0
	1/2	60,5	53,0
	1/4	30,3	27,9
	1/8	15,1	14,9
	1/16	7,6	7,8
	1/32	3,8	3,8

Die Proben wurden mit Null Kalibrator verdünnt.

### E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 30 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITABSTAND

	0'	30'
Probe 1 (mIU/ml)	2,2	2,3
Probe 2 (mIU/ml)	4,8	5,4
Probe 3 (mIU/ml)	53,6	54,6

### F. Hookeffekt

Eine Probe mit LH bis zu 1700 mIU/ml liefert höhere Messwerte als der letzte Kalibratormesswert.

## XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls Extra-Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

## XV. REFERENZINTERVALLE

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

Bereich auf basis der 2,5% und 97,5% Perzentile

Identifikation	Anzahl von Personen	Mittelwert (mIU/ml)	Bereich (mIU/ml)
<b>Kinder (0 bis 12 Jahre)</b>			
§ Jungen	20	0,2	0,0 – 1,4
§ Mädchen	20	0,4	0,0 – 0,9
<b>Jugendliche (12 bis 18 Jahre)</b>	18	2,9	0,1 – 10,6
<b>Erwachsene Männer</b>	69	2,7	1,0 – 5,3
<b>Frauen</b>			
. Ovulationszyklen			
- Follikelsphase (Tag -12 bis -6)	34	4,3	0,8 – 10,4
- Ovulationsgipfel (Tag 0)	49	19,6	2,9 – 41,1
- Lutealphase (Tag +6 bis +12)	63	3,3	0,5 – 7,6
. Postmenopausal	53	31,2	14,4 – 52,8

**XV. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN**

**Sicherheit**

Nur für diagnostische Zwecke.  
Dieser Kit enthält <sup>125</sup>I (Halbwertszeit: 60 Tagen) , das ionisierende X (28 keV) und γ (35.5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in USA erprobten FDA Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaprobe in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.

Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrte den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

**XVII. LITERATUR**

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)  
**Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.**  
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1
2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)  
**Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136
3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)  
**Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109
4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)  
**Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.**  
J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)  
**Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.**  
Clin. Chem., 34:768
6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)  
**Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.**  
Fertil. and Steril., 51:105
7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)  
**Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.**  
Clin. Chem., 37:415
8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)  
**Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.**  
Fertil. and Steril., 55:796
9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)  
**Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.**  
Biol. of the Neonat., 61:150
10. DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)  
**Circroral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.**  
Hum. Reprod., 7:337

**XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS**

	GESAMT-AKTIVITÄT (ml)	KALIBRATOREN (ml)	PROBE(N) KONTROLLEN (ml)
Kalibratoren (0-6) Proben, Kontrollen Tracer	- - 0,05	0,1 - 0,05	- 0,1 0,05
Inkubation	1 Std. bei RT unter ständigem Schütteln		
Trennung Waschlösung Trennung Waschlösung Trennung	- - - - -	absaugen (oder dekant.) 2,0 absaugen (oder dekant.) 2,0 absaugen (oder dekant.)	
Gamma Counter	60 Sekunden messen		

DIAsource Katalognummer : KIP1311 – KIP1341	Beipackzettelnummer: 1700517/de	Nummer der Originalausgabe: 110218/1
--	------------------------------------	---



Lees het hele protocol vóór gebruik.

# LHsp-IRMA

## ***I. BEOOGD GEBRUIK***

Immunoradiometrische testkit voor de in vitro kwantitatieve bepaling van humaan Luteinizerend Hormoon (LH) in serum.

## ***II. ALGEMENE INFORMATIE***

**A. Gedeponoerd handelsmerk:** DIAsource LHsp-IRMA kit

**B. Catalogusnummer:** KIP1311 : 96 testen  
KIP1314: 4x96 testen

**C. Geproduceerd door:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, België.

**Voor technische assistentie of voor bestelinformatie kunt u contact opnemen met:  
Tel.: +32 (0)10 84 99 11 - Fax: +32 (0)10 84 99 90**

## ***III. KLINISCHE ACHTERGROND***

### ***A. Biologische activiteit***

Zowel LH als FSH worden afgescheiden door de basofiele cellen van de hypofyse voorkwab ten gevolge de secretie van gonadotropine releasing hormone (GnRH) van hypothalamische cellen. Bij volwassenen controleren de LH en FSH hormonen geslachtsfuncties; vooral gametogenese en secretie van steroïden.


### ***B. Klinische toepassingen***

De bepaling van de concentraties van LH en FSH in serum is essentieel om de vruchtbaarheid te onderzoeken en in het bijzonder stoornissen van de hypothalamische/hypofysaire/gonadale as. De LHsp-IRMA is een één-stap test die specifiek is voor LH. Deze specifieke test maakt de meting mogelijk van de concentraties aan LH in serum, ongeacht de aanwezigheid van hCG van endogene (zwangerschap of ectopische tumor) of exogene oorsprong (*in vitro* bevruchtingsprogramma, met pregnylinjectie).

#### IV. BESCHRIJVING VAN DE METHODE

LHsp-IRMA van DIAsource is een immunoradiometrische bepaling die gebaseerd is op een scheiding aan de hand van een gecoate buis. Mabs1, de invangantilichamen, zijn onderaan aan het binnenoppervlak van de plastic buis gehecht. Kalibrators of monsters die toegevoegd worden aan de buizen zullen aanvankelijk een lage affiniteit vertonen voor Mabs1. Toevoeging van Mab2, het signaalgenererend antilichaam dat gelabeld werd met  $^{125}\text{I}$ , zal het systeem vervollenden en de immunologische reactie tweewegbrengen. Na de wasfase geeft de overblijvende radioactiviteit, gebonden aan de buis, de antigeenconcentratie weer. Door het gebruik van meerdere verschillende Mabs wordt hyperspecificiteit vermeden, die gebruikelijk is voor IRMA met 2 Mabs.

#### V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	Kit met 96 testen	Kit met 4x96 testen	Kleurcode	Reconstitutie			
 Buisen gecoat met anti-LH (monoklonale antilichamen)	2 x 48	8 x 48	blauw	Klaar voor gebruik			
<table border="1" data-bbox="95 660 231 705"><tr><td>Ab</td><td><math>^{125}\text{I}</math></td></tr></table> TRACER: Anti-LH (monoklonale antilichamen) gelabeld met $^{125}\text{I}$ jodium in TRIS-HCl buffer met bovien serumalbumine, azide (< 0,1%) een inerte rode kleurstof	Ab	$^{125}\text{I}$	1 flacon 5,5 ml 700 kBq	4 flacon 5,5 ml 4x700 kBq	rood	Klaar voor gebruik	
Ab	$^{125}\text{I}$						
<table border="1" data-bbox="95 840 231 884"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Nulkalibrator in bovien serum met thymol	CAL	0	1 flacon gevries- droomd	2 flacons gevries- droomd	geel	2 ml gedestilleerd water <b>toevoegen</b>	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="95 952 231 996"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 tot 6 (raadpleeg de flaconetiketten voor de exacte waarden) in bovien serum met thymol	CAL	N	6 flacons, gevries- droomd	12 flacons, gevries- droomd	geel	1 ml gedestilleerd water <b>toevoegen</b>	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="95 1108 263 1153"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wasoplossing (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	bruin	70 x met gedestilleerd water <b>verdunnen</b> (gebruik een magnetische roerder).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="95 1265 231 1310"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 of 2 in humaan serum met thymol.	CONTROL	N	2 flacons, gevries- droomd	4 flacons, gevries- droomd	zilver	0,5 ml gedestilleerd water <b>toevoegen</b>	
CONTROL	N						

Opmerking:

1. Gebruik Nulkalibrator voor monsterverdunningen
2. 1 mIE van de kalibratorbereiding is gelijk aan 1 mIE van 2<sup>nd</sup> IRP 80/552.

#### VI. NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

De volgende materialen zijn noodzakelijk maar worden niet meegeleverd met de kit:

1. Gedestilleerd water.
2. Pipetten voor een volume van 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 500  $\mu\text{l}$ , 1 ml en 2 ml (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic wegwerptips wordt aanbevolen).
3. Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) voor de wasfase.
4. Afzuigsysteem (facultatief).
5. Vortexmenger.
6. Magnetische roerder.
7. Schudder voor de buisjes.
8. Een gammateller die geschikt is voor de bepaling van  $^{125}\text{I}$  (rendement van ten minste 70%).

#### VII. BEREIDING VAN HET REAGENS

- A. Kalibrators:** Reconstitueer de nulkalibrator met 2 ml gedestilleerd water en de andere kalibrators met 1 ml gedestilleerd water.
- B. Controles:** Reconstitueer de controles met 0,5 ml gedestilleerd water.
- C. Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedestilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing (70 x).  
Gebruik een magnetische roerder voor de homogenisering. Op het eind van de dag moet de ongebruikte werk-wasoplossing afgevoerd worden.

#### VIII. OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA

- Vóór opening of reconstitutie zijn alle kitcomponenten houdbaar tot de vervaldatum, zoals vermeld op het etiket, indien zij bewaard werden bij 2 tot 8°C.
- Na reconstitutie zijn de kalibrators en de controles gedurende 3 dagen houdbaar bij 2 tot 8°C. Voor een langere bewaartermijn moeten aliquots gemaakt worden, die bij -20°C bewaard moeten worden voor maximaal 3 maanden. Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en ontdooien.
- Een vers bereide werk-wasoplossing moet op dezelfde dag nog gebruikt worden.
- Na het eerste gebruik is de tracer houdbaar tot de vervaldatum, indien bewaard bij 2 tot 8°C in de oorspronkelijke, goed afgesloten flacon.
- Wijzigingen in het fysieke aspect van kitreagentia kunnen wijzen op instabiliteit of op een kwaliteitsvermindering.

#### IX. MONSTERAFNAME EN MONSTERBEREIDING

- Serum moet bij 2 tot 8°C bewaard worden.
- Indien de bepaling niet binnen 24 uur uitgevoerd wordt, dan wordt aanbevolen om ze bij -20°C te bewaren.
- Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en ontdooien.

#### X. PROCEDURE

##### A. Opmerkingen bij de procedure

Gebruik de kit of de componenten niet langer dan de aangegeven vervaldatum. Materialen van kits van verschillende loten mogen niet gemengd worden. Laat alle reagentia op kamertemperatuur komen vóór gebruik. Meng alle reagentia en monsters goed door ze voorzichtig te bewegen of door er voorzichtig mee te draaien. Om kruisbesmetting te vermijden, moet een propere wegwerpbaar pipettip gebruikt worden voor toevoeging van elk reagens en monster. Pipetten met een grote precisie of geautomatiseerde pipetteapparatuur zullen de precisie verhogen. Respecteer de incubatietijden. Bereid een kalibratiecurve voor elke run; men mag geen gegevens gebruiken van voorafgaande runs.

##### B. Procedure

1. Etiketteer de gecoate buisjes in duplo voor elke kalibrator, voor elk monster, voor elke controle. Etiketteer 2 normale buizen voor de bepaling van de totaal tellingen.
2. Vortex de kalibrators, controles en monsters gedurende korte tijd en pipetteer 100  $\mu\text{l}$  van elk in de desbetreffende buis.
3. Pipetteer 50  $\mu\text{l}$  van de tracer in elke buis.
4. Schud het rek met de buizen voorzichtig met de hand zodat eventueel ingesloten luchtballen vrijkomen.
5. Incubeer gedurende 1 uur bij kamertemperatuur terwijl er voortdurend mee geschud wordt (700 rpm).
6. Zuig de inhoud van elke buis (met uitzondering van de totaal tellingen) op (of decanteer). Zorg ervoor dat de plastic tip van de aspirator tot aan de bodem van de gecoate buis komt zodat alle vloeistof verwijderd wordt.
7. Was de buizen met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaal tellingen). Vermijd schuimvorming tijdens toevoeging van de werk-wasoplossing.
8. Zuig de inhoud van elke buis (met uitzondering van de totaal tellingen) op (of decanteer).
9. Was de buisjes nogmaals met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaal tellingen) en zuig op (of decanteer).
10. Na de laatste wasfase moeten de buisjes gedurende twee minuten rechtop blijven staan en zuig daarna de overblijvende vloeistof op.
11. Tel de buizen in een gammateller gedurende 60 seconden.

#### XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

1. Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.
2. Zet de cpm (ordinaat) uit voor elke kalibrator tegen de overeenkomstige LH-concentratie (abscis) op semi-logaritmisch of lineair millimeterpapier en teken een kalibratiecurve door de kalibratiepunten, waarbij de duidelijke uitschieters verworpen worden.
3. Lees door interpolatie de concentratie voor elke controle en voor elk monster op de kalibratiecurve.
4. Door computergestuurde gegevensreductie worden deze berekeningen vereenvoudigd.  
Indien de resultaten automatisch verwerkt worden, wordt de 4 parameter logistische functie aanbevolen voor de gepaste curve.



## XII. KENMERKENDE GEGEVENS

De volgende gegevens dienen enkel ter illustratie en mogen in geen geval gebruikt worden ter vervanging van de real time kalibratiecurve.

LHsp-IRMA		cpm	B/T (%)
Totaaltelling		246440	100
Kalibrator	0,0 mIU/ml	207	0,1
	1,8 mIU/ml	533	0,2
	3,5 mIU/ml	1165	0,5
	9,9 mIU/ml	3821	1,6
	30,0 mIU/ml	12920	5,2
	97,0 mIU/ml	50053	20,3
	194,0 mIU/ml	93732	38,0

## XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

### A. Detectielimiet

Twintig nulkalibrators werden bepaald, samen met een reeks andere kalibrators. De detectielimiet, omschreven als de schijnbare concentratie van twee standaarddeviaties boven de gemiddelde tellingen bij nulbinding, bedroeg 0,2 mIU/ml.

### B. Specificiteit

Kruisreagerende hormonen werden toegevoegd aan kalibrators met lage en hoge waarden. De schijnbare respons van LH werd gemeten.

Toegevoegd hormoon	LHsp CAL 1 mIE/ml	LHsp CAL 5 mIE/ml
-	1,8	97
FSH 300 mIU/ml	1,6	87
hCG 300000 mIU/ml	2,4	85
TSH 300 $\mu$ IU/ml	3,6	100

### C. Precisie

BINNEN EEN TEST				TUSSEN TESTEN			
Serum	N	<X> $\pm$ SD (mIE/ml)	VC (%)	Serum	N	<X> $\pm$ SD (mIE/ml)	VC (%)
A	10	6,6 $\pm$ 0,3	3,9	C	20	5,9 $\pm$ 0,5	8,0
B	10	49,6 $\pm$ 0,7	1,4	D	20	56,7 $\pm$ 1,9	3,4

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

### D. Nauwkeurigheid

#### RECOVERY-TEST

Monster	Toegevoegd LH (mIE/ml)	Recovery van LH (mIU/ml)	Recovery (%)
1	0,5	0,7	130
	1,5	1,8	117
	5	4,5	89
	14	12,7	90
	46	46,1	100
2	0,5	0,7	140
	1,5	1,3	87
	5	4,7	94
	14	12,9	92
	46	43,8	95

#### VERDUNNINGSTEST

Monster	Verdunning	Theoretische concentratie (mIE/ml)	Concentratie die bepaald werd (mIE/ml)
1	1/1	-	79,7
	1/2	39,9	41,1
	1/4	19,9	19,9
	1/8	10,0	10,1
	1/16	5,0	5,3
	1/32	2,5	2,2
2	1/1	-	121,0
	1/2	60,5	53,0
	1/4	30,3	27,9
	1/8	15,1	14,9
	1/16	7,6	7,8
	1/32	3,8	3,8

De monsters zijn verdund met Nulkalibrator.

### F. Tijdspanne tussen de laatste kalibrator en distributie van het monster

Zoals hieronder weergegeven wordt, blijven de resultaten van de bepaling nauwkeurig, zelfs wanneer een monster 30 minuten na toevoeging van de kalibrator in de gecoatete tubes gepipetteerd wordt.

TIJDSPANNE		
	0'	30'
Monster 1 (mIE/ml)	2,2	2,3
Monster 2 (mIE/ml)	4,8	5,4
Monster 3 (mIE/ml)	53,6	54,6

### G. "Hook"-effect

Een monster, dat met LH gespiket werd tot 1700 mIE/ml, levert hogere tellingen op dan het laatste kalibratiepunt.

## XIV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Indien de resultaten, die verkregen werden voor controle 1 en/of controle 2, niet binnen het bereik vallen zoals vermeld op het faconetiket, dan mogen de resultaten niet gebruikt worden tenzij een bevredigende uitleg gegeven wordt voor de discrepantie.
- Indien gewenst, kan elk laboratorium zijn eigen pools voor controlemonsters maken, die dan in aliquots bewaard moeten worden in de diepvriezer.
- Aanvaardingscriteria voor het verschil tussen de resultaten in duplo van monsters moeten steunen op gangbare laboratoriumpraktijken.

## XV. REFERENTIE-INTERVALS

Deze waarden worden slechts als leidraad gegeven; elk laboratorium moet zijn eigen normaal bereik van waarden uitmaken.

Bereik gebaseerd op 2.5% & 97.5% percentielen.

Identificatie	Aantal subjecten	Gemiddelde (mIE/ml)	Bereik (mIE/ml)
<b>Kinderen (0 tot 12 jaar)</b>			
§ jongens	20	0,2	0,0 - 1,4
§ meisjes	20	0,4	0,0 - 0,9
<b>Pubers (12 to 18 jaar)</b>	18	2,9	0,1 - 10,6
<b>Mannelijke volwassenen</b>	69	2,7	1,0 - 5,3
<b>Vrouwen</b>			
· Ovulatiecycli			
- Folliculaire fase (dag -12 tot -6)	34	4,3	0,8 - 10,4
- Ovulatiepiek (dag 0)	49	19,6	2,9 - 41,1
- Luteale fase (dag +6 tot +12)	63	3,3	0,5 - 7,6
· Postmenopausaal	53	31,2	14,4 - 52,8

XVI. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik.

Deze kit bevat <sup>125</sup>I (halfwaardetijd: 60 dagen), dat ioniserende X- (28 keV) en  $\gamma$ -stralen (35.5 keV) uitzendt.

Dit radioactieve product mag enkel overhandigd worden aan en gebruikt worden door bevoegd personeel; ontvangst, opslag, gebruik en overdracht van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetgeving van het land van de eindgebruiker. In geen geval mag het product toegediend worden aan mensen of dieren.

Alle handelingen met radioactief materiaal moeten plaatsvinden in een daartoe bestemde ruimte, waar uitsluitend bevoegd personeel toegelaten wordt. Een logboek met ontvangst en opslag van radioactieve materialen moet worden bijgehouden in het laboratorium. Laboratoriumapparatuur en glaswerk, dat eventueel gecontamineerd werd met radioactieve bestanddelen, moeten worden gesegregeerd om kruisbesmetting van verschillende radioisotopen te vermijden.

Als radioactief materiaal gemorst werd, dan moet dat onmiddellijk gereinigd worden in overeenstemming met de procedure voor stralingsveiligheid. Het radioactieve afval moet worden weggegooid in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften en richtlijnen van de autoriteiten waaronder het laboratorium valt. Naleving van de basisregels van stralingsveiligheid zorgt voor een juiste bescherming.

De componenten, afkomstig van menselijk bloed, in deze kit werden getest door in Europa goedgekeurde en/of door de Amerikaanse FDA goedgekeurde methoden op aanwezigheid van HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 en 2 en gaven een negatief resultaat. Geen enkele bekende methode kan echter volledige garantie bieden dat derivaten van menselijk bloed geen hepatitis, aids of andere infecties overdragen. Daarom moet men reagentia, serum- of plasmamonsters behandelen in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsprocedures.

Alle producten en derivaten van dierlijke oorsprong zijn afkomstig van gezonde dieren. Boviene componenten komen uit landen waar BSE niet gerapporteerd werd. Toch moeten componenten die bestanddelen van dierlijke oorsprong bevatten, behandeld worden als potentieel infectieus materiaal.

Vermijd dat de reagentia (natriumazide als conserveermiddel) in contact komen met de huid. Azide in deze kit kan reageren met lood en koper in de afvoerleidingen en op die manier zeer explosieve metaalaziden vormen. Tijdens de wasfase moeten de afvoerleidingen ruimschoots met water nagespoeld worden om ophoping van azide te vermijden.

Niet roken, drinken, eten of cosmetica aanbrengen in de werkruimte. Niet met de mond pipetteren. Draag beschermende kleding en gebruik wegwerphandschoenen.

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)  
**Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.**  
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1
2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)  
**Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136
3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)  
**Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109
4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)  
**Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.**  
J. Reprod. Fertil., 65:45
5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)  
**Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.**  
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)  
**Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.**  
Fertil. and Steril., 51:105
7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)  
**Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.**  
Clin. Chem., 37:415
8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)  
**Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.**  
Fertil. and Steril., 55:796
9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)  
**Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.**  
Biol. of the Neonat., 61:150
10. DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)  
**Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.**  
Hum. Reprod., 7:337

XVIII. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL-TELLINGEN (ml)	KALIBRATORS (ml)	MONSTER(S) CONTROLES (ml)
Kalibrators (0 -6) Monsters, Controles Tracer	- - 0,05	0,1 - 0,05	- 0,1 0,05
Incubatie	1 uur bij kamertemperatuur terwijl er voortdurend mee geschud wordt.		
Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding	- - - - -	opzuigen (of decanteren) 2,0 opzuigen (of decanteren) 2,0 opzuigen (of decanteren)	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		

DIASource catalogusnummer: KIP1311 – KIP1341	Nummer van de bijsluiters: 1700517/nl	Revisienummer: 110218/1
---	--	----------------------------

Revisiedatum : 2011-02-18



es

Leer el protocolo completo antes de usar.

## LHsp-IRMA

### **I. INSTRUCCIONES DE USO**

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de la Hormona Luteinizante (LH) humana en suero.

### **II. INFORMACIÓN GENERAL**

- A. Nombre:** DIASource LHsp-IRMA Kit
- B. Número de Catálogo:** KIP1311 : 96 Tests  
KIP1314: 4x96 Tests
- C. Fabricado por:** DIASource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

**Para cuestiones técnicas y información sobre pedidos contactar :**  
**Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.90**

### **III. INFORMACIÓN CLÍNICA**

#### **A. Actividad biológica**

La LH y la FSH son segregadas por las células basófilas de la glándula pituitaria anterior a causa de la secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) por células hipotalámicas.

En adultos, las hormonas LH y FSH controlan funciones gonadales; especialmente la gametogenesis y la secreción de esteroides.

#### **B. Aplicación clínica**



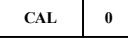

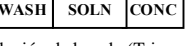
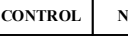
La medición de las concentraciones de la LH y de la FSH en suero es esencial para la investigación de la fertilidad y particularmente de disfunciones del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal.

La LHsp-IRMA es un ensayo monofásico que es específico para la LH. Este ensayo específico hace posible la medición de las concentraciones de la LH en suero, a pesar de la presencia de hCG de origen endógeno (embarazo o tumor ectópico) o exógeno (programa de fertilización *in vitro*, con inyección de pregnyl).

#### IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

LHsp-IRMA de DIAsource es un radioinmunoensayo basado en la separación en tubo recubierto de anticuerpos. Mabs1, los anticuerpos de captura, se adhieren en la parte interior inferior de las paredes del tubo de poliestireno. Al principio calibradores o muestras añadidos en los tubos presentarán poca afinidad con Mabs1. La adición de Mab2, el anticuerpo señal marcado con <sup>125</sup>I, completará el sistema y activará la reacción inmunológica. Después del lavado, la radiactividad restante adherida al tubo, refleja la concentración del antígeno. El uso de varios Mabs distintos evita hiperspecificidad, propio de IRMA dos-puntos.

#### V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	96 tests Kit	4x96 tests Kit	Código de Color	Reconstitución
 Tubos recubiertos con anti LH (anticuerpos monoclonales)	2 x 48	8 x 48	azul	Listo para uso
 Ab <sup>125</sup> I TRAZADOR: anti-LH (anticuerpos monoclonales) marcado con I125 en tampón TRIS-HCl con albumina bovina, azida (<0,1%) y un colorante rojo inerte	1 vial 5,5 ml 700 kBq	4 viales 5,5 ml 4x700 kBq	rojo	Listo para uso
 CAL 0 Calibrador cero en suero bovino y thymol	1 vial liofilizado	2 viales liofilizados	amarillo	Añadir 2 ml de agua destilada
 CAL N Calibradores N = 1 a 6 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero bovino y thymol	6 viales liofilizados	12 viales liofilizados	amarillo	Añadir 1 ml de agua destilada
 WASH SOLN CONC Solución de lavado (Tris-HCl)	1 vial 10 ml	4 viales 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
 CONTROL N Controles - N = 1 o 2 en suero humano y thymol.	2 viales liofilizados	4 viales liofilizados	plateado	Añadir 0,5 ml de agua destilada

#### Nota:

1. Para diluciones de muestras utilizar Calibrador cero.
2. 1 mUI de la preparación del calibrador es equivalente a 1 mUI 2<sup>nd</sup> IRP 80/552.

#### VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no está incluido en el kit

1. Agua destilada
2. Pipetas de 50µl, 100 µl, 500µl, 1ml y 2 ml (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
3. Vortex
4. Agitador magnético
5. Agitador de tubos
6. Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
7. Sistema de aspiración (opcional)
8. Contador de radiaciones gamma para medir I<sup>125</sup> (mínima eficiencia 70%)

#### VII. PREPARACIÓN REACTIVOS

- A. Calibradores:** Reconstituir el calibrador cero con 2 ml de agua destilada y los otros calibradores con 1 ml de agua destilada.
- B. Controles:** Reconstituir los controles con 0,5 ml de agua destilada.
- C. Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

#### VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir ó reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8°C.
- Después de su reconstitución los calibradores y controles son estables durante 3 días a 2 – 8°C. Para periodos más largos, alícuotar y guardar a – 20°C como mucho 3 meses. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Después del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2-8°C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad ó deterioro.

#### IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero deben ser guardadas a 2 – 8°C.
- Si el ensayo no se realiza en 24hrs., almacenar las muestras a –20°C.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

#### X. PROTOCOLO

##### A. Notas de manejo

No utilizar el kit ó componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente número de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso. Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra. El uso de pipetas de precisión ó equipamiento de dispensación automática mejorará la precisión. Respetar los tiempos de incubación. Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

##### B. Protocolo

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
2. Agitar brevemente los calibradores, controles y muestras y dispensar 100 µl de cada uno en sus respectivos tubos.
3. Dispensar 50 µL del trazador en cada tubo, incluyendo los tubos no recubiertos destinados a las Cuentas Totales.
4. Agitar suavemente la gradilla de tubos para eliminar cualquier burbuja pegada de las paredes de los tubos.
5. Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente en agitación constante (700 rpm).
6. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
7. Lavar los tubos con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado.
8. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales)
9. Lavar de nuevo con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar).
10. Después del último lavado, dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el líquido restante.
11. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

#### XI. CALCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Representar en un gráfico semilogarítmico o **linear las** c.p.m. (ordenada) de cada calibrador frente a las concentraciones de LH (abscisa) y dibujar una curva de calibración por los puntos de calibración, rechazando los duplicados discordantes.
3. Leer la concentración para cada control y muestra por interpolación en la curva de calibración.
4. Métodos computarizados de proceso de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de cálculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica “4 parámetros”.

## XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

LHsp-IRMA		cpm	B/T (%)
Cuentas Totales		246440	100
Calibrador	0,0 mUI/ml	207	0,1
	1,8 mUI/ml	533	0,2
	3,5 mUI/ml	1165	0,5
	9,9 mUI/ml	3821	1,6
	30,0 mUI/ml	12920	5,2
	97,0 mUI/ml	50053	20,3
	194,0 mUI/ml	93732	38,0

## XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

### A. Limite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores.

El limite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares sobre la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,2 mUI/ml.

### B. Especificidad

**Hormonas con reacción cruzada** se añadieron a un calibrador con valor LH bajo y a un calibrador con valor LH elevado. La respuesta aparente fue medida.

Hormona añadida	LHsp CAL 1 mUI/ml	LHsp CAL 5 mUI/ml
-	1,8	97
FSH 300 mUI/ml	1,6	87
hCG 300000 mUI/ml	2,4	85
TSH 300 µUI/ml	3,6	100

### C. Precisión

PRECISIÓN INTRA-ENSAYO                      PRECISIÓN INTER-ENSAYO

Suero	N	<X> ± SD (mUI/ml)	CV (%)	Suero	N	<X> ± SD (mUI/ml)	CV (%)
A	10	6,6 ± 0,3	3,9	C	20	5,9 ± 0,5	8,0
B	10	49,6 ± 0,7	1,4	D	20	56,7 ± 1,9	3,4

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

### D. Exactitud

#### TEST DILUCIÓN

Muestra	Dilución	Concent. Teórica (mUI/ml)	Concent. Medida (mUI/ml)
1	1/1	-	79,7
	1/2	39,9	41,1
	1/4	19,9	19,9
	1/8	10,0	10,1
	1/16	5,0	5,3
	1/32	2,5	2,2
	2	1/1	-
1/2		60,5	53,0
1/4		30,3	27,9
1/8		15,1	14,9
1/16		7,6	7,8
1/32		3,8	3,8

Las muestras fueron diluidas con calibrador cero.

#### TEST DE RECUPERACIÓN

Muestra	LH añadido (mUI/ml)	LH Recuperado (mUI/ml)	Recuperado (%)
1	0,5	0,7	130
	1,5	1,8	117
	5	4,5	89
	14	12,7	90
	46	46,1	100
2	0,5	0,7	140
	1,5	1,3	87
	5	4,7	94
	14	12,9	92
	46	43,8	95

### E. Tiempo de espera entre la dispensación del último calibrador y la de la muestra

Como se muestra a continuación la precisión del ensayo se mantiene incluso en el caso de dispensar la muestra 30 minutos después de haberse adicionado el calibrador a los tubos cubiertos.

TIEMPO DE ESPERA		
	0'	30'
Muestra 1 (mUI/ml)	2,2	2,3
Muestra 2 (mUI/ml)	4,8	5,4
Muestra 3 (mUI/ml)	53,6	54,6

### F. Efecto "gancho"

Una muestra con LH de 1700 mUI/ml presenta cuentas más elevadas que el último punto de calibración.

## XIV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, lo cuales se guardan en alícuotas congeladas.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados de los duplicados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

## XV. INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de guía; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.  
Alcance basados en percentiles de 2.5% & 97.5%

Identificación	Número de sujetos	Media (mUI/ml)	Rango (mUI/ml)
<b>Niños (0 a 12 años)</b>			
§ Muchachos	20	0,2	0,0 – 1,4
§ Muchachas	20	0,4	0,0 – 0,9
<b>Púberes (12 a 18 años)</b>	18	2,9	0,1 – 10,6
<b>Adultos masculinos</b>	69	2,7	1,0 – 5,3
<b>Mujeres</b>			
· Ciclo ovulatorio			
- Fase folicular (día -12 a -6)	34	4,3	0,8 – 10,4
- Pico ovulatorio (día 0)	49	19,6	2,9 – 41,1
- fase luteínica (día +6 a +12)	63	3,3	0,5 – 7,6
· Postmenopáusicas	53	31,2	14,4 – 52,8

**XVI. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS**

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I<sup>125</sup> (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA ó otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo substancias animales deberán ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

**XVII. BIBLIOGRAFIA**

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)  
**Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.**  
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1
2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)  
**Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136
3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)  
**Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109
4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)  
**Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.**  
J. Reprod. Fertil., 65:45
5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)  
**Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.**  
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)  
**Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.**  
Fertil. and Steril., 51:105
7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)  
**Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.**  
Clin. Chem., 37:415
8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)  
**Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.**  
Fertil. and Steril., 55:796
9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)  
**Serum levels of immunoreactive Inhibine, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.**  
Biol. of the Neonat., 61:150
10. DE HERTOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)  
**Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.**  
Hum. Reprod., 7:337

**XVIII. RESUMEN DEL PROTOCOLO**

	CUENTAS TOTALES (µl)	CALIBRADO RES (µl)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (µl)
Calibradores (0 al 6)	-	100	-
Muestras, controles	-	-	100
Trazador	50	50	50
Incubación	1 hora a T.A. en agitación constante		
Separación	-		aspirar
Solución de Lavado	-		2,0 ml
Separación	-		aspirar
Solución de Lavado	-		2,0 ml
Separación	-		aspirar
Contaje	Contar los tubos durante 60 segundos		

DIAsource Catalogo Nr : KIP1311 – KIP1341	P.I. Numero : 1700517/es	Revisión nr : 110218/1
--	-----------------------------	---------------------------

Fecha de la revisión : 2011-02-18

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

## LHsp-IRMA

### I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Κιτ ανοσοραδιομετρικού προσδιορισμού για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) στον ορό και το πλάσμα.

### II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. **Εμπορική ονομασία:** Κιτ LHsp-IRMA της DIAsource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KIP1311: 96 προσδιορισμοί  
KIP1314: 4x96 προσδιορισμοί
- Γ. **Κατασκευάζεται από την:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:  
Τηλ.: +32 (0)10 84.99.11 Φαξ: +32 (0)10 84.99.90

### III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

#### A. Βιολογική δράση

Τόσο η LH όσο και η FSH απεκκρίνονται από τα βασεόφιλα κύτταρα του προσθίου τμήματος της υπόφυσης ως αποτέλεσμα της απέκκρισης της εκλυτικής ορμόνης της γοναδοτροπίνης (GnRH) από κύτταρα του υποθαλάμου.

Στους ενήλικους, οι ορμόνες LH και FSH ελέγχουν τις γοναδικές λειτουργίες, κυρίως τη γαμετογένεση και την απέκκριση στεροειδών.

#### B. Κλινική εφαρμογή


Η μέτρηση των συγκεντρώσεων της LH και FSH στον ορό είναι σημαντική για τη διερεύνηση της γονιμότητας και ειδικά διαταραχών του άξονα υποθάλαμος/υπόφυση/γονάδες.

Ο προσδιορισμός LHsp-IRMA είναι προσδιορισμός ενός βήματος, ειδικός για την LH. Αυτός ο ειδικός προσδιορισμός επιτρέπει τη μέτρηση των συγκεντρώσεων της LH στον ορό, άσχετα από την παρουσία hCG ενδογενούς (κύηση ή εκτοπικός όγκος) ή εξωγενούς προέλευσης (πρόγραμμα *in vitro* γονιμοποίησης, με έγχυση pregnyl).

#### IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η εξέταση LHsp-IRMA της DIASource είναι ένας ανοσοραδιομετρικός προσδιορισμός που βασίζεται σε διαχωρισμό επιστρωμένων σωληναρίων. Τα Mabs1, τα αντισώματα σύλληψης, προσκολλώνται στην κάτω και εσωτερική επιφάνεια του πλαστικού σωληναρίου. Οι βαθμονομητές ή τα δείγματα που προστίθενται στα σωληνάρια εμφανίζουν κατ' αρχήν χαμηλή συγγένεια προς τα Mabs1. Προσθήκη Mab2, του αντισώματος σηματοδότησης που είναι σημασμένο με <sup>125</sup>I, θα ολοκληρώσει το σύστημα και θα πυροδοτήσει την ανοσολογική αντίδραση. Μετά την πλύση, η υπολειπόμενη ραδιενέργεια, που είναι δεσμευμένη στο σωληνάριο, αντανακλά τη συγκέντρωσή του αντιγόνου. Η χρήση αρκετών διακριτών Mabs εμποδίζει την υπεραιδικότητα.

#### V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Ποσότητα 96 προσδιορι σμοί	Ποσότητα 4x96 προσδιορι σμοί	Χρωματι- κός κωδικός	Ανασύσταση			
 Σωληνάρια επιστρωμένα με αντι LH (μονοκλωνικά αντισώματα)	2 x 48	8 x 48	μπλε	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1" data-bbox="76 779 199 824"> <tr> <td>Ab</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> Αντι-LH (μονοκλωνικά αντισώματα) σημασμένα με <sup>125</sup> I σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS-HCl με βόεια ορολευκωματίνη, αζίδιο του νατρίου (<0,1%) και αδρανής κόκκινη χρωστική	Ab	<sup>125</sup> I	1 φιαλίδιο 5,5 ml 700 kBq	4 φιαλίδια 5,5 ml 4x700 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση	
Ab	<sup>125</sup> I						
<table border="1" data-bbox="76 1003 210 1048"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Μηδενικός βαθμονομητής σε βόειο ορό με θυμόλη	CAL	0	1 φιαλίδιο λυοφιλ.	2 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 2 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="76 1120 210 1164"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Βαθμονομητές 1-6 σε βόειο ορό με θυμόλη (δείτε ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων)	CAL	N	6 φιαλίδια λυοφιλ.	12 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="76 1281 268 1326"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	4 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="76 1451 268 1496"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Οροί ελέγχου 1 και 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλ.	4 φιαλίδια λυοφιλ.	ασημί	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού	
CONTROL	N						

Σημείωση: 1. Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορών.

2. 1 mIU του παρασκευάσματος του βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 1 mIU του 2<sup>00</sup> IRP 80/552.

#### VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

1. Απεσταγμένο νερό
2. Πιπέτες για διανομή: 50 μl, 100 μl, 500 μl, 1 ml και 2 ml. (συνιστάται η χρήση πιπετών ακρίβειας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη).
3. Αναμεικτής στροβιλισμού
4. Μαγνητικός αναδευτήρας
5. Συσκευή ανάδευσης σωληναρίων
6. Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
7. Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό).
8. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε μετρητής γ ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης της <sup>125</sup>I (ελάχιστη απόδοση 70%).

#### VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε το μηδενικό βαθμονομητή με 2 ml απεσταγμένου νερού και άλλους βαθμονομητές με 1 ml απεσταγμένου νερού.
- B. Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

#### VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου παραμένουν σταθεροί επί 3 ημέρες στους 2-8° C.  
Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, θα πρέπει να δημιουργηθούν κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης και να διατηρηθούν σε θερμοκρασία -20° C επί 3 μήνες το μέγιστο. Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- Μετά την πρώτη χρήση του, ο ιχνηθέτης παραμένει σταθερός έως την ημερομηνία λήξης, εφόσον διατηρείται στο αρχικό, ερμητικά κλειστό φιαλίδιο σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

#### IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- § Ο ορός πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- § Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20° C.
- § Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.

#### X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

- A. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό**  
Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμείξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.
- B. Διαδικασία**
  1. Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη <sup>125</sup>I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
  2. Αναμείξτε για λίγο (με αναμεικτή στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, δείγματα και ορούς ελέγχου και διανείμετε 100 μl από έκαστο στα αντίστοιχα σωληνάρια.
  3. Διανείμετε 50 μl ιχνηθέτη αντι-LH-<sup>125</sup>I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβανόντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη <sup>125</sup>I ("total").
  4. Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
  5. Επώαστε επί 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου σε αναδευτήρα σωληναρίων στις 700 rpm.
  6. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη <sup>125</sup>I ["total"]). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
  7. Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη <sup>125</sup>I ["total"]). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.



- Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ["total"]).
- Πλύνετε τα σωληνάρια και πάλι με 2 ml διαλύματος πλύσης (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ["total"]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε).
- Μετά την τελευταία πλύση, αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
- Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή  $\gamma$  ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

#### XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
- Σε ημιλογαριθμικό ή γραμμικό χαρτί γραφημάτων, παραστήστε γραφικά τις c.p.m. (κρούσεις ανά λεπτό) (τεταγμένη) για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης της LH (τετμημένη) και σχεδιάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης μέσω των σημείων του βαθμονομητή, απορρίψτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
- Διαβάστε τη συγκέντρωση για κάθε ορό ελέγχου και δείγμα με αναγωγή στην καμπύλη βαθμονόμησης.
- Αναγωγή δεδομένων με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή θα απλοποιήσει αυτούς τους υπολογισμούς. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.

#### XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως παράδειγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

LHsp-IRMA		cpm	B/T (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη $^{125}\text{I}$ ("total")		246440	100
Βαθμονομητής	0,0 mIU/ml	207	0,1
	1,8 mIU/ml	533	0,2
	3,5 mIU/ml	1165	0,5
	9,9 mIU/ml	3821	1,6
	30,0 mIU/ml	12920	5,2
	97,0 mIU/ml	50053	20,3
	194,0 mIU/ml	93732	38,0

#### XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

##### A. Όριο ανίχνευσης

Μετρήθηκαν είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών. Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων πάνω από τις μέσες μετρήσεις σε μηδενική δέμευση, ήταν 0.2  $\mu\text{IU/ml}$ .

##### B. Ειδικότητα

Ορμόνες διασταυρούμενης αντιδραστικότητας προστέθηκαν σε ένα βαθμονομητή χαμηλής και υψηλής τιμής LH. Μετρήθηκε η φαινομενική απόκριση της LH.

Προσθεθείσα ορμόνη	LHsp CAL 1 mIU/ml	LHsp CAL 5 mIU/ml
-	1,8	97
FSH 300 mIU/ml	1,6	87
hCG 300000 mIU/ml	2,4	85
TSH 300 $\mu\text{IU/ml}$	3,6	100

##### Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ

ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ  
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ

Ορός	N	<X> ± T.A. mIU/ml	Σ.Α. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. mIU/ml	Σ.Α. (%)
A	10	6,6 ± 0,3	3,9	C	20	5,9 ± 0,5	8,0
B	10	49,6 ± 0,7	1,4	D	20	56,7 ± 1,9	3,4

#### Δ. Ορθότητα

##### ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Δείγμα	Προσθεθείσα LH (mIU/ml)	Ανακτηθείσα LH (mIU/ml)	Ανάκτηση (%)
1	0,5	0,7	130
	1,5	1,8	117
	5	4,5	89
	14	12,7	90
	46	46,1	100
2	0,5	0,7	140
	1,5	1,3	87
	5	4,7	94
	14	12,9	92
	46	43,8	95

##### ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (mIU/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (mIU/ml)
1	1/1	-	79,7
	1/2	39,9	41,1
	1/4	19,9	19,9
	1/8	10,0	10,1
	1/16	5,0	5,3
	1/32	2,5	2,2
2	1/1	-	121,0
	1/2	60,5	53,0
	1/4	30,3	27,9
	1/8	15,1	14,9
	1/16	7,6	7,8
	1/32	3,8	3,8

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

##### Ε. Μεσοδιάστημα

Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν αξιόπιστα ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 30 λεπτά μετά την προσθήκη του βαθμονομητή στα επιστρωμένα σωληνάρια.

##### ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ

	0'	30'
Δείγμα 1 (mIU/ml)	2,2	2,3
Δείγμα 2 (mIU/ml)	4,8	5,4
Δείγμα 3 (mIU/ml)	53,6	54,6

##### ΣΤ. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)

Δείγμα που εμβολιάστηκε με LH έως 1700  $\mu\text{IU/ml}$  δίνει σήμα πάνω από την υψηλότερη συγκέντρωση του βαθμονομητή.

#### XIV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

## XV. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές παρέχονται πιο κάτω μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Το πεδίο τιμών εκφράζεται ως ποσοστά επί τοις εκατό 2,5% έως 97,5%.

Ταυτοποίηση	Αριθμός ατόμων	Μέση τιμή (mIU/ml)	Πεδίο τιμών (mIU/ml)
<b>Παιδιά (0 έως 12 ετών)</b>			
§ Αγόρια	20	0,2	0,0 – 1,4
§ Κορίτσια	20	0,4	0,0 – 0,9
<b>Έφηβοι (12 έως 18 ετών)</b>	18	2,9	0,1 – 10,6
<b>Άρρενες ενήλικοι</b>	69	2,7	1,0 – 5,3
<b>Γυναίκες</b>			
· Κύκλοι ωορρηξίας			
- Ωοθυλακική φάση (ημέρα -12 έως -6)	34	4,3	0,8 – 10,4
- Κορυφή ωορρηξίας (ημέρα 0)	49	19,6	2,9 – 41,1
- Ωχρινική φάση (ημέρα +6 έως +12)	63	3,3	0,5 – 7,6
· Μετεμηνόπαυσιακές	53	31,2	14,4 – 52,8

## XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

### Ασφάλειας

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro.

Το kit αυτό περιέχει το <sup>125</sup>I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία X (28 keV) και γ (35.5 keV).

Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσοτόπων.

Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσώρευσης αζιδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

## XVII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)  
**Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.**  
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1
- FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)  
**Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

- MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)  
**Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109
- SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)  
**Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.**  
J. Reprod. Fertil., 65:45
- THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)  
**Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.**  
Clin. Chem., 34:768
- LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)  
**Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.**  
Fertil. and Steril., 51:105
- VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)  
**Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.**  
Clin. Chem., 37:415
- DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)  
**Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.**  
Fertil. and Steril., 55:796
- MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)  
**Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.**  
Biol. of the Neonat., 61:150
- DE HERTOIGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)  
**Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.**  
Hum. Reprod., 7:337

## XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΚΡΟΥΣΕΙΣ "TOTAL" ml	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗ-ΤΕΣ ml	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) ΟΡΟΙ/ΕΛΕΓΧΟΥ ml
Βαθμονομητές (0-6) Δείγματα, οροί ελέγχου Ιζηθθέντες	- 0,05	0,1 - 0,05	- 0,1 0,05
Επώαση	1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου με ανάδευση στις 700 rpm		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης Διαχωρισμός	- - - - -	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP1311 - KIP1314	Αριθμός P.I.: 1700517/el	Ημερομηνία έκδοσης: 110218/1
---	-----------------------------	---------------------------------

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

## LHsp-IRMA

### I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie immunoradiometryczne do ilościowego pomiaru ludzkiego hormonu luteinizującego (Luteinizing Hormone (LH)) w surowicy metodą *in vitro*.

### II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. **Nazwa firmowa:** DIASource LHsp-IRMA Kit
- B. **Numer katalogowy:** KIP1311: 96 oznaczeń  
KIP1314: 4 x 96 oznaczeń
- C. **Wyprodukowano przez:** DIASource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgia.

**Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:**

**Tel: +32 (0)10 84.99.11**

**Fax: +32 (0)10 84.99.90**

### III. INFORMACJE KLINICZNE

#### A. Aktywność biologiczna

Zarówno LH, jak i FSH są wydzielane przez komórki zasadochłonne przysadki, w wyniku sekrecji hormonu gonadoliberyny (GnRH) w podwzgórzu.

U dorosłych, hormony LH i FSH kontrolują funkcje gonad, a zwłaszcza gametogenezę i wydzielanie sterydów.

#### B. Zastosowania kliniczne


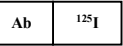
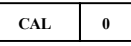
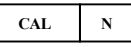
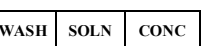
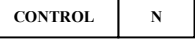
Pomiar stężeń LH i FSH w surowicy jest podstawowym badaniem w diagnostyce niepłodności a zwłaszcza zaburzeń osi podwzgórzowo/przysadkowo/gonadalnej.

Oznaczenie LHsp-IRMA jest testem jednoetapowym, swoistym dla LH. To swoiste oznaczenie pozwala na pomiar LH w surowicy, niezależnie od endogennego występowania hCG (np. w ciąży lub w guzach ektopowych), lub egzogennego podawania hCG (np. iniekcje hormonalne w programach zapłodnienia *in vitro*).

#### IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

Oznaczenie DIASource LHsp-IRMA jest metodą immunoradiometryczną, opartą na separacji w opłaszczonych probówkach. Mabs 1 – przeciwciała przechwytyjące – są umocowane do dolnej i wewnętrznej powierzchni plastikowej próbki. Kalibratory lub próbki, dodane do próbek, będą na początku wykazywały niskie powinowactwo do Mabs1. Dodanie Mab2, przeciwciała sygnałowego oznakowanego <sup>125</sup>I zakończy etap i wywoła reakcję immunologiczną. Po przepłukaniu, stopień radioaktywności związanej z probówką odzwierciedla stężenie antygeny. Wykorzystywanie różnych Mabs pozwala na uniknięcie nadmiernej czułości.

#### V. DOSTARCZONE ODCZYNNIKI

Odczynnik	Ilość 96 oznaczeń	Ilość 4 x 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstrukcja
 Probówki opłaszczone przeciwciałami anty LH (przeciwciała monoklonalne)	2 x 48	8 x 48	niebieski	Gotowe do zastosowania
 Przeciwciała (monoklonalne) anty- LH znakowane Jodem <sup>125</sup> w buforze TRIS zawierającym bydlęcą albuminę surowiczą, azydek (<0,1 %) i czerwony barwnik.	1 fiolka 5,5 ml 700 kBq	4 fioleki 5,5 ml 4 x 700 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania
 Kalibratory 0 w surowicy bydlęcej z tymolem	1 fiolka liofil.	2 fioleki liofil.	żółty	Dodać 2 ml wody destylowanej
 Kalibratory 1 - 6 w surowicy bydlęcej z tymolem (dokładne wartości na etykietach fiolek)	6 fiolek liofil.	12 fiolek liofil.	żółty	Dodać 1 ml wody destylowanej
 Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	1 fiolka 10 ml	4 fioleki 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
 Kontrola 1 i 2 w surowicy pochodzenia ludzkiego z tymolem	2 fioleki liofil.	4 fioleki liofil.	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej

**Uwaga:** 1. Do rozcieńczenia próbek należy użyć kalibratora zerowego.  
2. 1 mIU preparatu kalibratora jest równoważne do 1 mIU z 2<sup>th</sup> IRP 80/552.

#### VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:

1. Woda destylowana
2. Pipety do dostarczania objętości: 50 µl, 100 µl, 500 µl 1 ml i 2 ml. (zaleca się stosowanie właściwych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
3. Mieszadło wirowe
4. Mieszadło magnetyczne
5. Wyrząsarka próbek
6. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
7. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
8. Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru <sup>125</sup>I (minimalny uzysk 70%).

#### VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. Kalibratory:** Rekonstruować kalibrator 0 przy pomocy 2 ml wody destylowanej a inne kalibratory przy pomocy 1 ml wody destylowanej.
- B. Kontrola:** Kontrola należy rekonstruować przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- C. Roboczy roztwór płuczący:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczającego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczającego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczający należy wylać pod koniec dnia.

#### VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstrukcją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykiecie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rozpuszczeniu, kalibratory i kontrole zachowują stabilność przez 3 dni w temperaturze 2-8°C.  
W razie konieczności dłuższego przechowywania, niewielkie objętości powinny być przechowywane w temperaturze -20°C przez maksymalnie 3 miesiące. Unikać cykli rozmrażania i zamrażania.
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczający powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znacznik izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiolce w temperaturze od 2 do 8°C.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

#### IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Próbkę surowicy muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 24 godzin, zaleca się przechowywanie w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania i rozmrażania.

#### X. PROCEDURA

##### A. Uwagi dotyczące obsługi

Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie daty ważności. Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową. Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste, jednorazowe końcówki pipet. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia. Przestrzegać czasów inkubacji. Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.

##### B. Procedura

1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontrole należy oznaczyć opłaszczoną probówkę w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 zwykłe próbki.
2. Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 100 µl każdej substancji do odpowiednich próbek.
3. Dodać 50 µl anty-LH-<sup>125</sup>I (znacznik izotopowy) do wszystkich próbek w tym do nieopłaszczonych próbek do całkowitego zliczania.
4. Delikatnie potrząsać (ręcznie) stojak z probówkami, aby uwolnić wszelkie, uwięzione pęcherzyki powietrza.
5. Inkubować przez 60 minut w temperaturze pokojowej na mieszadle wirowym (700 obrotów/min).
6. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbki.
7. Przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczającego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczającego należy unikać wytwarzania piany.
8. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania).
9. Ponownie przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roztworu płuczającego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i aspirować (lub odlać).
10. Po ostatnim płukaniu, pozostawić próbki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu
11. Zliczać próbki w liczniku gamma przez 60 sekund.

## XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

1. Obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
2. Na papierze milimetrowym lub w kratkę wykreślić c.p.m. (rzędna) dla każdego kalibratora wobec odpowiadającego stężenia LH (odcietą) oraz wykreślić krzywą kalibracji przez punkty kalibratora, odrzucając oczywiste wartości odbiegające od linii środkowej.
3. Odczytać stężenie dla każdej kontroli i próbki przez naniesienie na krzywą kalibracyjną.
4. Redukcja danych przy pomocy komputera pozwoli uprościć te obliczenia. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.

## XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

LHsp-IRMA	cpm	B/T (%)
Zliczanie całkowite	246440	100
Kalibrator		
0,0 mIU/ml	207	0,1
1,8 mIU/ml	533	0,2
3,5 mIU/ml	1165	0,5
9,9 mIU/ml	3821	1,6
30,0 mIU/ml	12920	5,2
97,0 mIU/ml	50053	20,3
194,0 mIU/ml	93732	38,0

## XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

### A. Granica wykrywania

Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów. Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmienne stężenie dwóch odchyłek standardowych powyżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym kształtowała się na poziomie 0,2 mIU/ml.

### B. Swoistość

Hormony reagujące krzyżowo były dodane do kalibratora niskich i wysokich poziomów LH. Oznaczano przybliżoną odpowiedź LH.

Dodany hormon	LHsp CAL 1 mIU/ml	LHsp CAL 5 mIU/ml
-	1,8	97
FSH 300 mIU/ml	1,6	87
hCG 300000 mIU/ml	2,4	85
TSH 300 µIU/ml	3,6	100

### C. Precyzja

W SERII				POMIĘDZY SERIAMI			
Surowica	N	X ± S.D. (mIU/ml)	CV %	Surowica	N	X ± S.D. (mIU/ml)	CV %
A	10	6,6 ± 0,3	3,9	C	20	5,9 ± 0,5	8,0
B	10	49,6 ± 0,7	1,4	D	20	56,7 ± 1,9	3,4

SD Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

### D. Dokładność

#### BADANIE ODZYSKU

Próbka	LH dodana (mIU/ml)	LH odzyskany (mIU/ml)	Odzysk (%)
1	0,5	0,7	130
	1,5	1,8	117
	5	4,5	89
	14	12,7	90
	46	46,1	100
2	0,5	0,7	140
	1,5	1,3	87
	5	4,7	94
	14	12,9	92
	46	43,8	95

#### BADANIE ROZCIEŃCZENIA

Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (mIU/ml)	Stęż. zmierzone (mIU/ml)
1	1/1	-	79,7
	1/2	39,9	41,1
	1/4	19,9	19,9
	1/8	10,0	10,1
	1/16	5,0	5,3
	1/32	2,5	2,2
2	1/1	-	121,0
	1/2	60,5	53,0
	1/4	30,3	27,9
	1/8	15,1	14,9
	1/16	7,6	7,8
	1/32	3,8	3,8

Próbki zostały rozcieńczone przy pomocy kalibratora zerowego

### E. Opóźnienie pomiędzy oznaczeniem ostatniego kalibratora i dozowaniem próbek

Jak wykazano, wyniki pomiaru pozostają dokładne nawet wówczas, gdy od momentu dodania kalibratora do oplaszczonych probówek minęło 30 minut.

#### OPÓŹNIENIE

	0'	30'
Próbka 1 (mIU/ml)	2,2	2,3
Próbka 2 (mIU/ml)	4,8	5,4
Próbka 3 (mIU/ml)	53,6	54,6

### F. Efekt hook'a

Próbka nasyciona LH o stężeniu do 1700 mIU/ml daje wyższe wartości zliczeń niż kalibrator o najwyższym stężeniu.

## XIV. OGRANICZENIA

- Próbki od pacjentów, którzy w celach diagnostycznych lub terapeutycznych otrzymywali preparaty z mysich przeciwciał monoklonalnych, mogą zawierać ludzkie przeciwciała anty-mysie (HAMA). Próbki takie, oznaczane z użyciem zestawów testowych wykorzystujących mysie przeciwciała monoklonalne, mogą wykazywać wartości fałszywie zawyżone lub zaniżone.
- Przeciwciała heterofilne w ludzkiej surowicy mogą reagować z immunoglobulinami odczynnika, interferując z oznaczeniami immunologicznymi przeprowadzanymi in vitro. Pacjenci rutynowo ekspozycyjni na zwierzęta lub produkty z surowic zwierzęcych mogą wykazywać skłonność do takich interferencji i w razie obecności przeciwciał heterofilnych występować mogą u nich nieprawidłowe wyniki testów. Wyniki oznaczeń próbek od pacjentów z takimi przeciwciałami należy interpretować z ostrożnością. Jeżeli wyniki nie są zgodne z obserwacjami klinicznymi, przed postawieniem rozpoznania powinny być uzyskane dodatkowe informacje.

## XV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i/lub 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach. Nie wolno zamrażać i rozmrażać więcej niż dwukrotnie.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

## XVI. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości przedstawione poniżej mają wyłącznie cel orientacyjny; każde laboratorium powinno opracować własne zakresy norm. Zakres jest wyrażony jako 2,5 – 97,5% percentyla.

Identyfikacja	Liczba osobników	Średnia (mIU/ml)	Zakres (mIU/ml)
Dzieci (0 – 12 lat)			
§ Chłopcy	20	0,2	0,0 – 1,4

§ Dziewczęta	20	0,4	0,0 – 0,9
<b>Okres dojrzewania (12 – 18 lat)</b>	18	2,9	0,1 – 10,6
<b>Dorośli mężczyźni</b>	69	2,7	1,0 – 5,3
<b>Kobiety</b>			
· Cykle jajnikowe			
- Faza folikularna (od -12 do -6 dnia)	34	4,3	0,8 – 10,4
- Szczyt owulacyjny (dzień 0)	49	19,6	2,9 – 41,1
- Faza lutealna (od +6 do +12 dnia)	63	3,3	0,5 – 7,6
· Okres pomenopauzalny	53	31,2	14,4 – 52,8

### XVII. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

#### Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki *in vitro*.

Zestaw zawiera <sup>125</sup>I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35,5 keV).

Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie plamy z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaakceptowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anty-HCV, anty-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydłace pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.

Unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołowiem w układzie kanalizacyjnym tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

### XIII. BIBLIOGRAFIA

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)  
**Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.**  
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1
2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)  
**Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136
3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)  
**Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109
4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)  
**Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.**  
J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)  
**Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.**  
Clin. Chem., 34:768
6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)  
**Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.**  
Fertil. and Steril., 51:105
7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)  
**Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.**  
Clin. Chem., 37:415
8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)  
**Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.**  
Fertil. and Steril., 55:796
9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)  
**Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.**  
Biol. of the Neonat., 61:150
10. DE HERTOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)  
**Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.**  
Hum. Reprod., 7:337

### XIX. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CAŁKOWITA LICZBA ZLICZEŃ ml	KALIBRATORY ml	PRÓBKA(I) KONTROLE ml
Kalibratory (0-6)	-	0,1	-
Próbki, kontrole	-	-	0,1
Znacznik izotopowy	0,05	0,05	0,05
Inkubacja	60 minut w temperaturze pokojowej z wytrząsaniem 700 rpm		
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Roztwór płuczający	-	2,0	
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Roztwór płuczający	-	2,0	
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIASource KIP1311 – KIP1314	Numer P.I. 1700517/pl	Nr aktualizacji : 110218/1
--	--------------------------	-------------------------------

Data wydania : 2011-02-18

Прочетете целия протокол преди употреба

## LHsp-IRMA

### I. УПОТРЕБА

Имунорадиометричен кит за количествени измервания *in vitro* на човешки лутеинизиращ хормон (LH) в серум.

### II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

- A. Патентовано име: DIAsource LHsp-IRMA Kit
- B. Каталожен номер: KIP1311: 96 теста  
KIP1314: 4 x 96 теста
- C. Произведено от: DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve,  
Belgium.

За техническа помощ или поръчка:

Тел.: +32 (0)10 84.99.11      Факс: +32 (0)10 84.99.90

### III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

#### A. Биологична активност

Двата LH (лутеинизиращ хормон) и FSH (фоликулостимулиращ хормон) се секретират от базофилните клетки в предния дял на хипофизата като резултат от секрецията на гонадотропин-освобождаващ хормон (GnRH) от клетките на хипоталамуса.

При възрастни хормоните LH и FSH контролират гонадните функции: основно гаметогенезата и секрецията на стероиди.

#### B. Клинично приложение


Измерванията на серумните концентрации на LH и FSH са от основно значение за изследване на фертилитета и особено за диагностициране на нарушения по хипоталамо-хипофизо-яйчниковата ос.

LHsp-IRMA е изследване от една стъпка, специфично за LH. Това специфично изследване подпомага измерването на серумните концентрации на LH, независимо от наличието на hCG (човешки хорионгонадотропин) от ендогенен (при бременност или ектопичен тумор) или екзогенен (при провеждане на *in vitro* фертилизация с инжекционно прилагане на Pregnyl) произход.

#### IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

DIASource LHsp-IRMA е имунорадиометрично изследване на база на сепарация на покрити епруветки. Mabs1 (моноклонални антитела 1), които са прихващащи антитела, са разположени по долната и вътрешната повърхност на пластмасовата епруветка. Калибраторите или пробите, които се добавят към епруветките отначало показват слаб афинитет към Mabs1. Добавянето на Mabs2, които са сигнални антитела, маркирани с  $^{125}\text{I}$ , завършват системата и пускат в ход имунологичната реакция. След измиване остатъчната радиоактивност, свързана с епруветката, отразява антигенната концентрация. Използването на няколко различни Mabs предотвратява развитието на хиперспецифичност.

#### V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти	Количество 96 теста	Количество 4 x 96 теста	Цветен код	Приготвяне			
 Епруветки, покрити с анти-LH (моноклонални антитела)	2 x 48	8 x 48	син	Готов за употреба			
<table border="1" data-bbox="52 658 212 712"> <tr> <td>Ab</td> <td><math>^{125}\text{I}</math></td> </tr> </table> Анти-LH $^{125}\text{I}$ (моноклонални антитела) в TRIS-HCl буфер със волски серумен албумин, натриев азид (<0.1%) и инертна червена боя	Ab	$^{125}\text{I}$	1 флакон 5.5 ml 700 kBq	4 флакона 5.5 ml 4 x 700 kBq	червен	Готов за употреба	
Ab	$^{125}\text{I}$						
<table border="1" data-bbox="52 909 212 963"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Нулев Калибратор във волски серум с тимол	CAL	0	1 флакон лиофилизиран	2 флакона лиофилизирани	жълт	Добавете 2 ml дестилирана вода	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="52 1039 212 1093"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Калибратори 1-6 във волски серум с тимол (виж точните стойности на етикетите на флаконите)	CAL	N	6 флакона лиофилизирани	12 флакона лиофилизирани	жълт	Добавете 1 ml дестилирана вода	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="52 1240 212 1294"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Измиващ разтвор (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 флакон 10 ml	4 флакона 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="52 1393 212 1447"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Контроли 1 и 2 в човешки серум с тимол	CONTROL	N	2 флакона лиофилизирани	4 флакона лиофилизирани	сребърен	Добавете 0.5 ml дестилирана вода	
CONTROL	N						

Забележка: 1. Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.  
2. 1 mIU от калибрирания препарат е еквивалентен на 1 mIU от  $^{125}\text{I}$  IRP 80/552.

#### VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

1. Дестилирана вода
2. Пипети от: 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 500  $\mu\text{l}$ , 1 ml и 2 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
3. Завихрящ смесител
4. Магнитен сепаратор
5. Клатещо устройство за епруветки
6. 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
7. Аспирационна система (по избор).
8. Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество  $^{125}\text{I}$  (минимален капацитет от 70%)

#### VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- A. Калибратори:** Реконституирайте нулевия калибратор с 2 ml дестилирана вода, а другия калибратор – с 1 ml дестилирана вода.
- B. Контроли:** Реконституирайте контролите с 0.5 ml дестилирана вода.
- C. Работен измиващ разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измиващия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиващ разтвор в края на деня.

#### VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8 °C преди отваряне или реконституиране.
- След реконституиране, калибраторите и контролите са стабилни за срок от 3 дни при температури 2-8°C. За по-дълги срокове на съхранение, се определя повторно и се съхранява при температура -20 °C за максимум 3 месеца. Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Прясно приготвения Работен измиващ разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

#### IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът трябва да се съхранява при температури 2-8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 24 часа, се препоръчва съхранение при температура -20°C.
- Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.

#### X. ПРОЦЕДУРА

##### A. Общи бележки

Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партии китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура. Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклашане или въртеливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен накрайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба. Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрили точността. Съобразявайте се с времето за инкубация. Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

##### B. Процедура

1. Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
2. Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 100  $\mu\text{l}$  от всяко в съответните епруветки.
3. Разпределете 50  $\mu\text{l}$  от анти-LH- $^{125}\text{I}$  трейсер във всяка епруветка, включително и в епруветките без покритие за общия брой импулси.
4. Разърсете нежно с ръка стойката с епруветките, за да освободите някое остатъчно въздушно мехурче.
5. Инкубирайте за 1 час при стайна температура в клатещо устройство за епруветки (700 оборота в минута).
6. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
7. Изплакнете епруветките с 2 ml от Измиващия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Избягвайте получаването на пяна по време на добавянето на Работния измиващ разтвор.
8. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси).
9. Изплакнете отново епруветките с 2 ml от Измиващия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси) и аспирирайте (или прелейте).



10. След последното изплакване, оставете епруветките да стоят обърнати нагоре за две минути и аспирирайте останалите капчици от течността.
11. Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

### XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
- На полулогаритмична или линейна диаграма върху графична хартия нанесете (на ординатата) броят на минута за всеки калибратор (общ брой импулси в минута) спрямо (на абсцисата) съответната концентрация на LH и начертайте калибрационна крива през калибрационните точки като не включвате точките, които очевидно не принадлежат към тази крива.
- Прочетете концентрациите за всяка контрола и проба чрез интерполиране върху калибрационната крива.
- Тези изчисления могат да се улеснят чрез асистирано редуциране на данните посредством компютър. Ако се използва автоматична обработка на резултатите, се препоръчва прилагането на 4-параметрова логистична функционална крива.

### XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна крива.

LHsp-IRMA		cpm	В/Г (%)
Общ брой		246440	100
Калибратор	0.0 mIU/ml	207	0.1
	1.8 mIU/ml	533	0.2
	3.5 mIU/ml	1165	0.5
	9.9 mIU/ml	3821	1.6
	30.0 mIU/ml	12920	5.2
	97.0 mIU/ml	50053	20.3
	194.0 mIU/ml	93732	38.0

### XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

#### A. Определен лимит

Двадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил 0.2 mIU/ml.

#### B. Специфичност

Хормони с кръстосана реактивност са добавени към калибратор за ниски и високи стойности на LH. Явният LH отговор е измерен.

добавен хормон	LHsp CAL 1 mIU/ml	LHsp CAL 5 mIU/ml
-	1.8	97
FSH 300 mIU/ml	1.6	87
hCG 300000 mIU/ml	2.4	85
TSH 300 µIU/ml	3.6	100

#### B. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО				МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО			
Серум	N	<X>±S.D. mIU/ml	CV (%)	Серум	N	<X>±S.D. mIU/ml	CV (%)
A	10	6.6±0.3	3.9	C	20	5.9±0.5	8.0
B	10	49.6±0.7	1.4	D	20	56.7±1.9	3.4

#### G. Точност

##### ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

Проба	Добавен LH (mIU/ml)	Възстановен LH (mIU/ml)	Възстановяване (%)
1	0.5	0.7	130
	1.5	1.8	117
	5	4.5	89
	14	12.7	90
	46	46.1	100
	0.5	0.7	140
2	1.5	1.3	87
	5	4.7	94
	14	12.9	92
	46	43.8	95

### ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ

Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (mIU/ml)	Измерена концентрация (mIU/ml)
1	1/1	-	79.7
	1/2	39.9	41.1
	1/4	19.9	19.9
	1/8	10.0	10.1
	1/16	5.0	5.3
	1/32	2.5	2.2
2	1/1	-	121.0
	1/2	60.5	53.0
	1/4	30.3	27.9
	1/8	15.1	14.9
	1/16	7.6	7.8
	1/32	3.8	3.8

Пробите са били разредени с нулев калибратор.

#### D. Закъснение

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 30 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруветка.

	0'	30'
Проба 1 (mIU/ml)	2.2	2.3
Проба 2 (mIU/ml)	4.8	5.4
Проба 3 (mIU/ml)	53.6	54.6

#### E. Ефект на кукичката

Една проба с добавен LH до 1700 mIU/ml сигнализира за надхвърляне на най-високата концентрация на калибратора.

### XIV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни проби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

### XV. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности.

Обхватът се изразява като 2.5% до 97.5% персентила.

Идентификация	Брой обекти	Средно (mIU/ml)	Обхват (mIU/ml)
<b>Деца (от 0 до 12 години)</b>			
• Момчета	20	0.2	0.0 – 1.4
• Момичета	20	0.4	0.0 – 0.9
<b>В пубертетна възраст (от 12 до 18 години)</b>	18	2.9	0.1 – 10.6
<b>Възрастни мъже</b>	69	2.7	1.0 – 5.3
<b>Жени</b>			
Овулаторни цикли			
• Фоликуларна фаза (ден -12 до -6)	34	4.3	0.8 – 10.4
• Овулаторен пик (ден 0)	49	19.6	2.9 – 41.1
• Лутеална фаза (ден +6 до +12)	63	3.3	0.5 – 7.6
Постменопаузален период	53	31.2	14.4 – 52.8

### XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

#### Безопасност

Само за in vitro диагностика.

Този набор съдържа <sup>125</sup>I (полуживот: 60 дни), емитиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (35.5 keV) лъчения.

Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извършва в определена за целта територия, далеч от регулярни зони на преминаване. В лабораторията

трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и стъклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радионуклиди.

Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност. Всички животински продукти и деривати са били събирани от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска серумна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третират като потенциално инфекциозни.

Избягвайте каквото и да било кожен контакт с реагентите (съдържат натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със силна и обилна струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.

Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пилетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

## XVII. БИБЛИОГРАФИЯ

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)

**Пулсативност на репродуктивните хормони: физиологични основи и клинично приложение.**

Baillière's Clin. Endocrinol. Metab. 1:1

2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr, (1986)

**Характеристика на физиологичните модели на епизодична гонадотропна секреция по време на целия човешки менструален цикъл.**

J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)

**Хормонална динамика по време на прехода между лутеална и фоликуларна фаза.**

J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109

4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)

**Сравнение между in-vitro биоактивността и имунореактивността на серумния LH при нормални цикли и при хипогонадни жени лекувани с ниски дози LH-RH.**

J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)

**Измерване на серумната hLH: hCG интерференция, оценена чрез два hLH-специфични IRMA набора.**

Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)

**Хормонални промени, предизвикани от краткосрочното приложение на гонадотропин-освобождаващ хормон агонист по време на овариалната хиперстимулация при in-vitro фертилизация и последствията им върху ембрионалното развитие.**

Fertil. and Steril., 51:105

7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)

**Интерпретация на пет имунологични изследвания с моноклонални антитела на Lutropin и Follitropin: ефекти на нормализиране по СЗО стандарт.**

Clin. Chem., 37:415

8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAND D., LAMBOTTE R., FRACHIMONT P. (1991)

**Вариации на серумните концентрации на лутенизиращия хормон след екзогенно прилагане на човешки хорионгонадотропин по време на овариалната стимулация.**

Fertil. and Steril., 55:796

9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)

**Серумни нива на имунореактивния Inhibine, FSH и LH при човешки кърмачета, родени преди и на термин.**

Biol. of the Neonat., 61: 150

10. DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)

**Циркадни флукутации на серумния общ ренин, инхибин и свързаните с тях хормони около средата на цикъла при здрави човешки индивиди от женски пол.**








Hum. Reprod., 7:337

## XVIII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ ml	КАЛИБРАТОРИ ml	ПРОБА (И) КОНТРОЛИ ml
Калибратори (0-6)	-	0.1	-
Проби, контроли	-	-	0.1
Трейсър	0.05	0.05	0.05
Инкубация	1 час при стайна температура с разклащане 700 оборота в минута		
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Измивач разтвор	-	2.0	
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Измивач разтвор	-	2.0	
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Броене	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIASource каталог номер: KIP 1311 – KIP 1314	P.I. номер: 1700517/bu	Номер на ревизия: 110218/1
---	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2011-02-18

	<b>Used symbols</b>
	Consult instructions for use
	Storage temperature
	Use by
<b>LOT</b>	Batch code
<b>REF</b>	Catalogue number
<b>CONTROL</b>	Control
<b>IVD</b>	In vitro diagnostic medical device
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
WASH SOLN CONC	Wash solution concentrated
CAL 0	Zero calibrator
CAL N	Calibrator #
CONTROL N	Control #
Ag 1251	Tracer
Ab 1251	Tracer
Ag 1251 CONC	Tracer concentrated
Ab 1251 CONC	Tracer concentrated
	Tubes
INC BUF	Incubation buffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Dilution buffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Calibrator diluent
REC SOLN	Reconstitution solution
PEG	Polyethylene glycol
EXTR SOLN	Extraction solution
ELU SOLN	Elution solution
GEL	Bond Elut Silica cartridges
PRE SOLN	Pre-treatment solution
NEUTR SOLN	Neutralization solution
TRACEUR BUF	Tracer buffer
	Microtiterplate
Ab HRP	HRP Conjugate
Ag HRP	HRP Conjugate
Ab HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
Ag HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
CONJ BUF	Conjugate buffer
CHROM TMB CONC	Chromogenic TMB concentrate
CHROM TMB	Chromogenic TMB solution
SUB BUF	Substrate buffer
STOP SOLN	Stop solution
INC SER	Incubation serum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjugate
SUB PNPP	Substrate PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin conjugate concentrate
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentrate
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotin conjugate
Ab	Specific Antibody
SAV HRP CONC	Streptavidin HRP concentrate
NSB	Non-specific binding
2nd Ab	2nd Antibody
ACID BUF	Acidification Buffer
DIST	Distributor

	<b><u>Symboles utilisés</u></b>
	Consulter les instructions d'utilisation
	Température de conservation
	Utiliser jusqu'à
<b>LOT</b>	Numéro de lot
<b>REF</b>	Référence de catalogue
<b>CONTROL</b>	Contrôle
<b>I V D</b>	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Contenu suffisant pour <n> tests
WASH SOLN CONC	Solution de lavage concentrée
CAL 0	Calibrateur zéro
CAL N	Calibrateur #
CONTROL N	Contrôle #
Ag 125I	Traceur
Ab 125I	Traceur
Ag 125I CONC	Traceur concentré
Ab 125I CONC	Traceur concentré
	Tubes
INC BUF	Tampon d'incubation
ACETONITRILE	Acétonitrile
SERUM	Sérum
DIL SPE	Diluant du spécimen
DIL BUF	Tampon de dilution
ANTISERUM	Antisérum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbant
DIL CAL	Diluant de calibrateur
REC SOLN	Solution de reconstitution
PEG	Glycol Polyéthylène
EXTR SOLN	Solution d'extraction
ELU SOLN	Solution d'élution
GEL	Cartouches Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solution de pré-traitement
NEUTR SOLN	Solution de neutralisation
TRACEUR BUF	Tampon traceur
<b>TIT</b>	Microplaque de titration
Ab HRP	HRP Conjugué
Ag HRP	HRP Conjugué
Ab HRP CONC	HRP Conjugué concentré
Ag HRP CONC	HRP Conjugué concentré
CONJ BUF	Tampon conjugué
CHROM TMB CONC	Chromogène TMB concentré
CHROM TMB	Solution chromogène TMB
SUB BUF	Tampon substrat
STOP SOLN	Solution d'arrêt
INC SER	Sérum d'incubation
BUF	Tampon
Ab AP	AP Conjugué
SUB PNPP	Tampon PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotine conjugué concentré
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentré
ASS BUF	Tampon de test
Ab BIOT	Biotine conjugué
Ab	Anticorps spécifique
SAV HRP CONC	Concentré streptavidine HRP
NSB	Liant non spécifique
2nd Ab	Second anticorps
ACID BUF	Tampon d'acidification

	<b><u>Gebrauchte Symbolen</u></b>
	Gebrauchsanweisung beachten
	Lagern bei
	Verwendbar bis
<b>LOT</b>	Chargenbezeichnung
<b>REF</b>	Bestellnummer
<b>CONTROL</b>	Kontrolle
<b>I V D</b>	In Vitro Diagnostikum
	Hersteller
	Ausreichend für <n> Ansätze
WASH SOLN CONC	Waschlösung-Konzentrat
CAL 0	Null kalibrator
CAL N	Kalibrator #
CONTROL N	Kontrolle #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer Konzentrat
Ab 125I CONC	Tracer Konzentrat
	Röhrchen
INC BUF	Inkubationspuffer
ACETONITRILE	Azetonitril
SERUM	Humanserum
DIL SPE	Probenverdünner
DIL BUF	Verdünnungspuffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunadsorbens
DIL CAL	Kalibratorverdünnung
REC SOLN	Rekonstitutionslösung
PEG	Polyethylenglykol
EXTR SOLN	Extraktionslösung
ELU SOLN	Eluierungslösung
GEL	Bond Elut Silikakartuschen
PRE SOLN	Vorbehandlungslösung
NEUTR SOLN	Neutralisierungslösung
TRACEUR BUF	Tracer-Puffer
<b>U U</b>	Mikrotiterplatte
Ab HRP	HRP Konjugat
Ag HRP	HRP Konjugat
Ab HRP CONC	HRP Konjugat Konzentrat
Ag HRP CONC	HRP Konjugat Konzentrat
CONJ BUF	Konjugatpuffer
CHROM TMB CONC	Chromogenes TMB Konzentrat
CHROM TMB	Farblösung TMB
SUB BUF	Substratpuffer
STOP SOLN	Stopplösung
INC SER	Inkubationsserum
BUF	Puffer
Ab AP	AP Konjugat
SUB PNPP	Substrat PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin-Konjugat-Konzentrat
AVID HRP CONC	Avidin-HRP-Konzentrat
ASS BUF	Assaypuffer
Ab BIOT	Biotin-Konjugat
Ab	Spezifischer Antikörper
SAV HRP CONC	HRP Streptavidinkonzentrat
NSB	Unspezifische Bindung
2nd Ab	Sekundärer Antikörper
ACID BUF	Ansäuerungspuffer

	<b><u>Gebruikte symbolen</u></b>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Bewaartemperatuur
	Houdbaar tot
<b>LOT</b>	Lotnummer
<b>REF</b>	Catalogusnummer
<b>CONTROL</b>	Controle
<b>I V D</b>	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek
	Fabrikant
	Inhoud voldoende voor <n> testen
WASH SOLN CONC	Wasoplossing, geconcentreerd
CAL 0	Nulkalibrator
CAL N	Kalibrator #
CONTROL N	Controle #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer geconcentreerd
Ab 125I CONC	Tracer geconcentreerd
	Buisjes
INC BUF	Incubatiebuffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Verdunningsbuffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Kalibratorverdunner
REC SOLN	Reconstitutieplossing
PEG	Polyethyleen glycol
EXTR SOLN	Extractieplossing
ELU SOLN	Elutieoplossing
GEL	Bond Elut Silica kolom
PRE SOLN	Pre-behandelingsoplossing
NEUTR SOLN	Neutralisatieoplossing
TRACEUR BUF	Tracerbuffer
<b>TIT</b>	Microtiterplaat
Ab HRP	HRP Conjuugaat
Ag HRP	HRP Conjuugaat
Ab HRP CONC	HRP Conjuugaat geconcentreerd
Ag HRP CONC	HRP Conjuugaat geconcentreerd
CONJ BUF	Conjuugaat buffer
CHROM TMB CONC	Chromogene TMB geconcentreerd
CHROM TMB	Chromogene Oplossing TMB
SUB BUF	Substraatbuffer
STOP SOLN	Stopoplossing
INC SER	Incubatieserum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjuugaat
SUB PNPP	Substraat PNPP
BIOT CONJ CONC	Geconcentreerd Biotine conjuugaat
AVID HRP CONC	Geconcentreerd Avidine-HRP conjuugaat
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotine conjuugaat
Ab	Specifiek antilichaam
SAV HRP CONC	Streptavidine-HRP concentraat
NSB	Aspecifieke binding
2nd Ab	2de antilichaam
ACID BUF	Verzuringbuffer

	<b><u>Símbolos utilizados</u></b>
	Consultar las instrucciones de uso
	Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad
<b>LOT</b>	Código de lote
<b>REF</b>	Número de catálogo
<b>CONTROL</b>	Control
<b>I V D</b>	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Contenido suficiente para <n> ensayos
WASH SOLN CONC	Solución de lavado concentrada
CAL 0	Calibrador cero
CAL N	Calibrador #
CONTROL N	Control #
Ag 125I	Trazador
Ab 125I	Trazador
Ag 125I CONC	Trazador concentrada
Ab 125I CONC	Trazador concentrada
	Tubos
INC BUF	Tampón de incubación
ACETONITRILE	Acetonitrilo
SERUM	Suero
DIL SPE	Diluyente de Muestra
DIL BUF	Tampón de dilución
ANTISERUM	Antisuero
IMMUNOADSORBENT	Inmunoadsorbente
DIL CAL	Diluyente de calibrador
REC SOLN	Solución de Reconstitución
PEG	Glicol Polietileno
EXTR SOLN	Solución de extracción
ELU SOLN	Solución de elución
GEL	Cartuchos Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solución de Pre-tratamiento
NEUTR SOLN	Solución de Neutralización
TRACEUR BUF	Tampón de trazador
<b>TLT</b>	Placa de microvaloración
Ab HRP	HRP Conjugado
Ag HRP	HRP Conjugado
Ab HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
Ag HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
CONJ BUF	Tampón de Conjugado
CHROM TMB CONC	Cromógena TMB concentrada
CHROM TMB	Solución Cromógena TMB
SUB BUF	Tampón de sustrato
STOP SOLN	Solución de Parada
INC SER	Suero de Incubación
BUF	Tampón
Ab AP	AP Conjugado
SUB PNPP	Sustrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado de conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrado avidina-HRP
ASS BUF	Tampón de ensayo
Ab BIOT	Conjugado de biotina
Ab	Anticuerpo específico
SAV HRP CONC	Estreptavidina-HRP Concentrado
NSB	Unión no específica
2nd Ab	Segundo anticuerpo
ACID BUF	Tampón de Acidificación

	<b><u>Επεξήγηση συμβόλων</u></b>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Ημερομηνία λήξης
<b>LOT</b>	Αριθμός παρτίδας
<b>REF</b>	Αριθμός καταλόγου
<b>CONTROL</b>	Πρότυπο ελέγχου
<b>I V D</b>	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κατασκευαστής
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις
WASH SOLN CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης
CAL 0	Μηδενικός βαθμονομητής
CAL N	Βαθμονομητής #
CONTROL N	Ορός ελέγχου #
Ag 125I	Ιζηθέτης
Ab 125I	Ιζηθέτης
Ag 125I CONC	Χρωμογόνος Ιζηθέτης
Ab 125I CONC	Χρωμογόνος Ιζηθέτης
	Σωληνάκια
INC BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης
ACETONITRILE	Ακετονιτρίλιο
SERUM	Ορός
DIL SPE	Διάλυμα αραιώσεως δειγμάτων
DIL BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσεως
ANTISERUM	Αντιορός
IMMUNOADSORBENT	Ανοσοπροσροφητικό
DIL CAL	Αραιωτικό βαθμονομητών
REC SOLN	Διάλυμα ανασύστασης
PEG	Πολυαιθυλενογλυκόλη
EXTR SOLN	Διάλυμα εκχύλισης
ELU SOLN	Διάλυμα έκλυσης
GEL	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut
PRE SOLN	Διάλυμα προεπεξεργασίας
NEUTR SOLN	Διάλυμα εξουδετέρωσης
TRACEUR BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα
<b>PL</b>	Πλάκα μικροτιτλοδότησης
Ab HRP	HRP Σύζευγμα
Ag HRP	HRP Σύζευγμα
Ab HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
Ag HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
CONJ BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος
CHROM TMB CONC	Χρωμογόνος TMB
CHROM TMB	Διάλυμα χρωμογόνου TMB
SUB BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
STOP SOLN	Ανασχετικό αντιδραστήριο
INC SER	Ορός επώασης
BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα
Ab AP	AP Σύζευγμα
SUB PNPP	PNPP υποστρώματος
BIOT CONJ CONC	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
AVID HRP CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP
ASS BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού
Ab BIOT	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
Ab	Ειδικό Αντίσωμα
SAV HRP CONC	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP
NSB	μη-ειδική δέσμευση
2nd Ab	2ο Αντίσωμα
ACID BUF	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο



	<b><u>Stosowane symbole</u></b>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją
	Temperatura przechowywania
	Zużyć przed
<b>LOT</b>	Kod serii
<b>REF</b>	Numer katalogowy
<b>CONTROL</b>	Kontrola
<b>I V D</b>	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro
	Producent
	Zawartość wystarczająca do <n> testów
WASH SOLN CONC	Roztwór płuczący stężony
CAL 0	Kalibrator zerowy
CAL N	Kalibrator nr
CONTROL N	Kontrola nr
Ag 125I	Znacznik izotopowy
Ab 125I	Znacznik izotopowy
Ag 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony
Ab 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony
	Probówki
INC BUF	Wymagana inkubacja buforu
ACETONITRILE	Acetonitryl
SERUM	Surowica
DIL SPE	Rozcieńczalnik próbki
DIL BUF	Bufor do rozcieńczania
ANTISERUM	Antysurowica
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Rozcieńczalnik kalibratora
REC SOLN	Roztwór do rozcieńczania
PEG	Glikol poli(oksy)etylenowy
EXTR SOLN	Roztwór ekstrakcyjny
ELU SOLN	Roztwór elucyjny
GEL	Kolumny krzemionkowe Bond Elut
PRE SOLN	Roztwór do przygotowania wstępnego
NEUTR SOLN	Roztwór neutralizujący
TRACEUR BUF	Bufor znacznika
<b>TUF</b>	mikropłytki
Ab HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej
Ag HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej
Ab HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej
Ag HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej
CONJ BUF	Bufor do koniugacji
CHROM TMB CONC	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)
CHROM TMB	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)
SUB BUF	Bufor substratu
STOP SOLN	Roztwór zatrzymujący reakcję
INC SER	Wymagana inkubacja surowicy
BUF	Bufor
Ab AP	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)
SUB PNPP	p-nitrofenylofosforan substratowy
BIOT CONJ CONC	Koncentrat koniugatu biotyny
AVID HRP CONC	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną
ASS BUF	Bufor do oznaczania
Ab BIOT	Koniugatu biotyny
Ab	Przeciwciało swoiste
SAV HRP CONC	Koncentrat streptawidyny HRP
NSB	Wiązanie nieswoiste
2nd Ab	Drugie przeciwciało
ACID BUF	Bufor zakwaszający

	<b><u>Използвани символи</u></b>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
<b>LOT</b>	Партиден код
<b>REF</b>	Каталожен номер
<b>CONTROL</b>	Контрол
<b>I V D</b>	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
<b>TTT</b>	Микротигърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер