



ichroma™ LH

POUŽITÍ

ichroma™ LH je test na principu fluorescenční imunanalýzy (FIA) pro kvantitativní stanovení luteinizačního hormonu (LH) v lidském séru/plazmě. Je to užitečný prostředek při řízení a monitorování problému s plodností, funkcí reprodukčních orgánů (vaječnicků nebo varlat) nebo při zjišťování ovulace. Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

ÚVOD

Lidský luteinizační hormon (LH, lutropin) je glykoproteinový hormon se dvěma podjednotkami (α a β). LH má molekulovou hmotnost přibližně 29 000 daltonů. ¹ Podjednotka α LH obsahuje 92 aminokyselinových zbytků a je v podstatě identická s podjednotkami β folikulostimulačního hormonu (FSH, folitropin), thyreoidálního stimulačního hormonu (TSH, thyrotropin) a lidského choriového gonadotropinu (hCG). ^{1,4} Podjednotka β LH obsahuje 112 aminokyselinových zbytků a výrazně se liší od podjednotky FSH a TSH. ^{1,4,5} Podjednotky β LH a hCG jsou si však velmi podobné. Strukturální podobnost mezi LH a hCG je příčinou zjištěné podobnosti biologických vlastností. ^{1,5,6} U žen hLH stimuluje konečné dozrávání folikulu, rupturu folikulu a ovulaci. ⁷ Lidský LH je vylučován gonadotropními buňkami předního laloku hypofýzy v reakci na gonadotropin uvolňující hormon (GnRH) z mediálního bazálního hypotalamu. Jak hLH, tak hFSH jsou vylučovány pulzními způsoby; u hFSH je to však méně patrné, snad kvůli delšímu poločasů v oběhu. ⁷ V normálním menstruačním cyklu negativní zpětná vazba estradiolem potlačuje sekreci hLH ve folikulární fázi. S vývojem folikulu (v reakci na hFSH) se zvyšuje produkce estradiolu, což vyvolává zvýšení GnRH a zvýšenou citlivost hypofýzy na GnRH. Vzestup GnRH má za následek předovulační (v polovině cyklu) vzestup hLH a ovulaci. Po tomto vzestupu je hLH během luteální fáze potlačen v důsledku negativní zpětné vazby progesteronu a estradiolu. ⁷⁻⁹ U normálně menstrujících žen jsou pozorovány rozdíly v délce cyklu v důsledku variability v délce folikulární fáze. U žen v menopauze jsou hladiny hLH zvýšené v reakci na sníženou produkci ovariálních estrogenů a progestagenů, což eliminuje mechanismus negativní zpětné vazby na hypofýzu. V důsledku toho se ovulace a menstruační cykly snižují a nakonec ustanou. ¹⁰ U mužů se hLH často označuje jako hormon stimující intersticiální buňky a ovlivňuje produkci testosteronu Leydigovými buňkami varlat. ¹¹ V menopauze nebo po ovariectomii u žen klesají koncentrace estrogenů na nízké hladiny. Snížené koncentrace estrogenů mají za následek ztrátu negativní zpětné vazby na uvolňování gonadotropinů. Důsledkem je zvýšení koncentrací LH a FSH. ^{12,13,14} Koncentrace hLH a hFSH se běžně stanovují při vyšetřování menstruačního cyklu, plodnosti a poruch pubertálního vývoje, jako je předčasná selhání vaječnicků, menopauza, poruchy ovulace a selhání hypofýzy. ¹⁵ Poměr hLH/hFSH se používá jako pomoc při diagnostice polycystických vaječnicků. Nízké koncentrace hLH a hFSH mohou ukazovat na selhání hypofýzy, zatímco zvýšené koncentrace hLH a hFSH spolu se sníženými koncentracemi gonadálních steroidů mohou ukazovat na selhání gonád (menopauza, ovariectomie, syndrom předčasných ovarií, Turnerův syndrom). ¹⁶ Nízké koncentrace gonadotropinů jsou obvykle pozorovány u žen užívajících perorální antikoncepci na bázi steroidů. ¹⁷ U mužů mohou zvýšené hodnoty hLH a hFSH při nízkých koncentracích gonadálních steroidů ukazovat na selhání varlat nebo anorchii. U Klinefelterova syndromu může být hLH zvýšený v důsledku selhání Sertoliho buněk. ¹⁸

PRINCIP

Test využívá sendvičovou imunodetekční metodu; detekční protilátka v pufru se váže na antigen ve vzorku. Vzniklé komplexy antigen-protilátka migrují nitrocelulózovou maticí, kde jsou zachyceny druhou imobilizovanou protilátkou na testovacím proužku.

Čím více antigenu je ve vzorku, tím více komplexu antigen-protilátka vzniká, což vede k silnější intenzitě fluorescenčního signálu na detekční protilátce, který je zpracován přístrojem pro ichroma™ testy se znázorněnou koncentrací LH ve vzorku.

KOMPONENTY

- ichroma™ LH test** obsahuje "kazety", "zkumavky s detekčními pufrů" a "ID čip".
- Kazeta obsahuje testovací proužek, což je membrána s protilátkou proti lidskému LH na testovací linii a králičím IgG na kontrolní linii.
- Každá kazeta je samostatně uzavřena v sáčku z hliníkové fólie obsahujícím vysoušedlo. 25 zatavených kazet je zabaleno v krabici, která obsahuje rovněž ID čip.
- Detekční pufr obsahuje fluorescenční konjugát protilátky proti lidskému LH, fluorescenční konjugát protilátky proti králičímu IgG, hovězí sérový albumin (BSA) jako stabilizátor a azid sodný jako konzervant v pufru CAPSO.
- Detekční pufr je předem dávkován ve zkumavce. 25 zkumavek s detekčním pufrům je zabaleno v krabici a dále zabaleno do polystyrenové krabice s ledovými polštářky pro přepravu.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Pečlivě dodržujte pokyny a postupy popsané v tomto "Návodu k použití".
- Používejte pouze čerstvé vzorky a vyhýbejte se přímému slunečnímu záření.
- Číslo šarží všech testovacích komponent (kazety, ID čipu a detekčního pufru) se musí vzájemně shodovat.
- Nezaměňujte testovací součásti mezi různými šaržemi ani nepoužívejte testovací součásti po uplynutí doby použitelnosti, protože by to mohlo vést ke zkrácení výsledků testu.
- Nepoužívejte opakovaně. Zkumavka s detekčním pufrům by měla být použita pouze pro zpracování jednoho vzorku. Stejně tak i kazeta.
- Před použitím by měla kazeta zůstat uzavřená v původním obalu. Nepoužívejte kazetu, pokud je obal poškozen nebo již otevřen.
- Zmrazený vzorek by se měl rozmrazit pouze jednou. Pro přepravu musí být vzorky zabaleny v souladu s předpisy. Vzorek se silnou hemolýzou a hyperlipémií nelze použít a měl by být znovu odebrán.
- Těsně před použitím nechte kazetu, detekční pufr a vzorek temperovat při pokojové teplotě přibližně 30 minut.
- ichroma™ LH test** i přístroj pro testy ichroma™ by měly být používány mimo dosah vibrací a/nebo magnetického pole. Při běžném používání může přístroj pro testy ichroma™ vykazovat drobné vibrace.
- S použitými detekčními pufrů, pipetovacími špičkami a kazetami je třeba zacházet opatrně a likvidovat je vhodným způsobem v souladu s příslušnými místními předpisy.
- Expozice většinou množství azidu sodného může způsobit určité zdravotní problémy, jako jsou křeče, nízký krevní tlak a srdeční frekvence, ztráta vědomí, poškození plíc a selhání dýchání.
- ichroma™ LH test** poskytuje přesné a spolehlivé výsledky za následujících podmínek.
 - Použití **ichroma™ LH** by se mělo používat pouze ve spojení s přístrojem pro ichroma™ testy.
 - Nepoužívat jiná antikoagulantia mimo EDTA, heparinu sodného a citrátů sodného.**

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

- Kazeta je stabilní po dobu 20 měsíců (uzavřená v sáčku z hliníkové fólie), pokud je skladována při teplotě 4-30 °C.
- Detekční pufr dávkovaný ve zkumavkách je stabilní po dobu 20 měsíců, pokud je skladován při teplotě 2-8 °C.
- Po otevření sáčku s kazetou by měl být test proveden okamžitě.

OMEZENÍ TESTOVACÍHO SYSTÉMU

- Test může poskytnout falešně pozitivní výsledek (výsledky) v důsledku zkřížených reakcí a/nebo nespecifické adheze určitých složek vzorku na zachycující/detekční protilátku.
- Test může rovněž vykazovat falešně negativní výsledek. Nereagování antigenu s protilátkou je nejčastější v případech, kdy je epitop maskován některými neznámými složkami, takže není detekován nebo zachycen protilátkami. Nestabilita nebo degradace antigenu časem a/nebo teplotou může způsobit falešnou negativitu, protože antigen není rozpoznatelný protilátkou.
- Další faktory mohou ovlivnit test a způsobit chybné výsledky, jako jsou technické/procedurální chyby, degradace testovacích složek/reagentů nebo přítomnost interferujících látek v testovacích vzorcích.
- Jakákoliv klinická diagnóza založená na výsledku testu musí být podložena komplexním posouzením příslušného lékařem včetně klinických příznaků a dalších relevantních výsledků testů.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Složky ichroma™ LH testu

- Krabice s kazetami:
 - Kazety 25
 - ID čip 1
 - Návod k použití 1
- Krabička obsahující zkumavky s detekčním pufrům
 - Detekční pufr 25

POTŘEBNÝ MATERIÁL DODÁVANÝ NA VYŽÁDÁNÍ

Následující položky lze zakoupit samostatně od testu **ichroma™ LH**. Pro více informací kontaktujte EXBIO Olomouc s.r.o..

- Přístroj pro ichroma testy
 - i-CHROMA Reader
 - ichroma™ II
 - ichroma™ Printer
 - Boditech LH Control

ODĚB A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Typem vzorku pro **ichroma™ LH test** je **lidské sérum/plazma**.

- Doporučuje se testovat vzorek do 24 hodin po odběru krve.
- Sérum nebo plazma by měly být odděleny od krve centrifugací do 3 hodin po odběru plně krve.
- Vzorky lze před testováním skladovat až týden při teplotě 2-8 °C. Pokud bude testování odloženo více než týden, vzorky by měly být zmrazeny při -20 °C.
- Vzorky skladované při -20 °C po dobu 2 měsíců nevykazovaly žádné rozdíly ve výkonnosti.
- Jakmile byl vzorek zmrazen, měl by být pro test použit pouze jednou, protože opakované zmrazování a rozmrazování může mít za následek změnu hodnot testu.

PŘÍPRAVA TESTU

- Zkontrolujte obsah **ichroma™ LH testu**: zatavené kazety, zkumavky s detekčním pufrům a ID čip.
- Ujistěte se, že se číslo šarže kazety shoduje s číslem identifikačního čipu i detekčního pufru.
- Těsně před testem vytemperujte zatavenou kazetu (pokud byla uložena v chladničce) a zkumavku s detekčním pufrům při pokojové teplotě po dobu nejméně 30 minut. Umístěte kazetu na čistý, bezpečný a rovný povrch.
- Zapněte přístroj pro testy ichroma™.
(Kompletní informace a návod k použití naleznete v "Příručce k obsluze přístroje pro testy ichroma™".)

TESTOVACÍ POSTUP

"Režim Multi"

- Pipetou přeneste 150 μ l vzorku (**lidské sérum/plazma/kontrola**) do zkumavky obsahující detekční pufr.
- Zavřete víčko zkumavky s detekčním pufrům a vzorek důkladně promíchejte asi 10s násobným protřepáním. (Směs vzorků musí být použita okamžitě.)
- Napipetujte 75 μ l směsi se vzorkem do jamky pro vzorek na kazetě.
- Kazetu se vzorkem inkubujte 15 minut při pokojové teplotě.
⚠ Po uplynutí inkubační doby naskenujte kazetu se vzorkem ihned. V opačném případě dojde k nepřesnému výsledku testu.
- Pro naskenování kazetu se vzorkem ji vložte do nosiče kazety v přístroji pro testy ichroma™. Před zasunutím kazety do nosiče zajistěte její správnou orientaci. Na kazetě je speciálně pro tento účel vyznačena šipka.
- Stisknutím tlačítka "Select" nebo "Start" na přístroji pro testy ichroma™ zahájíte proces skenování.
- Přístroj pro testy ichroma™ začne okamžitě skenovat kazetu se vzorkem.
- Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje.

INTERPRETACE VÝSLEDKU TESTU

- Přístroj pro testy ichroma™ automaticky vypočítá výsledek testu a zobrazí koncentraci LH v testovaném vzorku v mIU/ml.
- Cut-off (referenční rozmezí)**

Typ	mIU/ml	
Muži	1.79 – 7.68	
Ženy	Folikulární fáze	1.48 – 12.40
	Ovulační fáze	16.47 – 73.87
	Luteální fáze	0.64 – 14.67
Postmenopauzální	11.49 – 40.62	

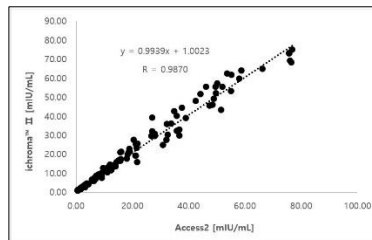
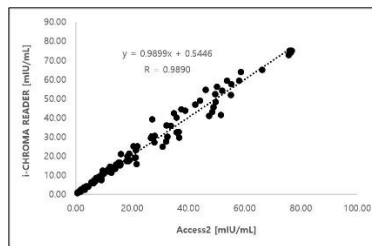
- Pracovní rozsah: 1,0-100,0 mIU/ml

KONTROLA KVALITY

- Testy kontroly kvality jsou součástí správné laboratorní praxe pro potvrzení očekávaných výsledků a

platnosti testu a měly by se provádět v pravidelných intervalech.

- Kontrolní testy by měly být provedeny ihned po otevření nové šarže, aby se zajistilo, že se výkonnost testu nezmění.
- Testy kontroly kvality by se měly provádět také vždy, když existuje jakákoliv pochybnost o platnosti výsledků testu.
- Kontrolní materiály nejsou dodávány s přípravkem **ichroma™ LH**. Pro více informací ohledně získání kontrolních materiálů kontaktujte EXBIO Olomouc s.r.o. (Viz návod k použití kontrolního materiálu.)



VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Analytická citlivost

Limit blanku (LoB)	0,29 mIU/ml
Limit detekce (LoD)	0,4 mIU/ml
Limit stanovitelnosti (LoQ)	1 mIU/ml

Analytická specifita

Zkřížená reaktivita:

Do testovaných vzorků byly přidány v tabulce uvedené biomolekuly, v koncentracích mnohem vyšších, než jsou jejich běžné fyziologické hladiny v krvi. Výsledky testu **ichroma™ LH** neprokázaly žádnou významnou zkříženou reaktivitu s těmito biomolekulami.

Materiály	Koncentrace materiálu	Zkřížená reaktivita (%)
hCG	15 000 mIU/ml	0.55
FSH	1 500 mIU/ml	N/D
PRL	1 500 mIU/ml	N/D
TSH	1 500 mIU/ml	0.31

* ND : nedetekováno

Interference:

Studie interference uvedené v tabulce s **ichroma™ LH** ukázala následující výsledky.

Interferenční materiály	Koncentrace interferenčních materiálu	Interference (%)
D-glukóza	60 mM/L	< 1.3
Kyselina L-askorbová	0,2 mM/L	< 2.6
Billirubin [nekonjugované]	0,4 mM/L	< 2.8
Lidský hemoglobin	2 g/l	< 3.0
Cholesterol	13 mM/L	< 4.5
Triglyceridy	10 mg/ml	< 3.1
Citrát sodný	16 mg/ml	< 3.5
Heparin sodný	100U/ml	< 3.4
EDTA	7,5 mg/ml	< 2.3

Přesnost

- Mezi šaržemi
Jedna osoba testovala tři různé šarže **ichroma™ LH**, desetkrát při každé koncentraci kontrolního standardu.
- Mezi osobami
Tři různé osoby testovaly stejnou šarži **ichroma™ LH**, desetkrát při každé koncentraci kontrolního standardu.
- Mezi dny
Jedna osoba testovala stejnou šarži **ichroma™ LH** testu během pěti dnů pětkrát při každé koncentraci kontrolního standardu.
- Mezi místy
Tři různé osoby testovaly stejnou šarži **ichroma™ LH** testu na třech různých místech, pětkrát při každé koncentraci kontrolního standardu.

LH (mIU/ml)	Mezi šaržemi		Mezi osobami		Mezi dny		Mezi místy	
	AVG	CV(%)	AVG	CV(%)	AVG	CV(%)	AVG	CV(%)
5.00	5.30	3.4	5.32	3.07	5.38	5.1	5.37	5.0
10.00	10.19	7.3	10.17	5.65	10.19	7.1	10.29	7.1
50.00	53.22	5.0	52.71	5.39	52.31	4.4	52.51	4.2

Přesnost

Přesnost byla potvrzena testováním se 3 různými šaržemi **ichroma™ LH** testu. Testy se opakovaly desetkrát v každé koncentraci.

LH (mIU/ml)	Šarže 1	Šarže 2	Šarže 3	AVG	Recovery (%)
3.0	2.87	3.01	2.96	2.95	98%
7.5	7.42	7.59	7.45	7.49	100%
25.5	25.80	25.63	24.56	25.33	99%
55.0	58.91	54.49	54.44	55.95	102%
75.0	74.10	76.34	73.46	74.63	100%

Porovnatelnost

Koncentrace LH ve 119 vzorcích séra byly kvantifikovány nezávisle pomocí přístrojů **ichroma™ LH** (i-CHROMA READER, ichroma™ II) a Access2 (Beckman Coulter Inc. USA) podle předepsaných testovacích postupů. Výsledky testů byly porovnané a jejich porovnatelnost byla honocena pomocí lineární regrese a koeficientu korelace (R). Lineární regrese a korelační koeficient mezi oběma testy jsou následující.

	Lineární regrese	Koeficient korelace (R)
i-CHROMA READER	$Y = 0.9899X + 0.5446$	$R = 0.9890$
ichroma™ II	$Y = 0.9939X + 1.0023$	$R = 0.9870$

ODKAZY

- Pierce JG, Parsons TF. Glycoprotein Hormones: Structure and Function. *Annu Rev Biochem* 1981; 50:465-95.
- Shome B, Parlow AF. Human Follicle Stimulating Hormone (hFSH): First Proposal For the Amino Acid Sequence of the α -Subunit and First Demonstration of its Identity with the α -Subunit of Human Luteinizing Hormone (hLH). *J Clin Endocrinol Metab* 1974; 39:199-202.
- Sairam MR, Li CH. Human Pituitary Thyrotropin: Isolation and Chemical Characterization of its Subunits. *Biochem Biophys Res Commun* 1973; 51:336-42.
- Vaitukaitis JL, Ross GT, Braunstein GD, et al. Gonadotropins and Their Subunits: Basic and Clinical Studies. *Recent Prog Horm Res* 1976; 32:289-331.
- Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle-Stimulating Hormones. In: Parsons JA, editor. Peptide Hormones. Baltimore: University Park Press, 1976:273-98.
- Keutmann HT, Williams RM, Ryan RJ. Structure of Human Luteinizing Hormone Beta Subunit: Evidence for a Related Carboxyl-Terminal Sequence Among Certain Peptide Hormones. *Biochem Biophys Res Commun* 1979; 90:842-8.
- South SA, Yankov VI, Evans WS. Normal reproductive neuroendocrinology in the female. In Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 1993; Edited by Veldhuis JD, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co. 22: 1-28.
- Adashi EY. The ovarian life cycle. In Reproductive Endocrinology. Edited by Yen, S.S.C., Jaffe, R.B., Philadelphia, W. B. Saunders Co. 1991; 181-237.
- Yen SSC. The human menstrual cycle: neuroendocrine regulation. In Reproductive Endocrinology 1991; Edited by Yen, S.S.C., Jaffe, RB, Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., 273-308.
- Richardson SJ. The biological basis of menopause. *Baillières Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993; 7:1-16.
- Reyes-Fuentes A, Veldhuis JD. Neuroendocrine physiology of the normal male gonadal axis. In Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 1993; Edited by Veldhuis, JD. Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co., 22: 93-124.
- Ross GT. Disorders of the Ovary and Female Reproductive Tract. In: Wilson JD and Foster DW, editors. *Williams Textbook of Endocrinology*. Philadelphia: Saunders, 1985:206-58.
- Beastall GH, et al. Assays for Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone: Guidelines for the Provision of a Clinical Biochemistry Service. *Ann Clin Biochem* 1987; 24:246-62.
- Judd HL. Hormonal Dynamics Associated with the Menopause. *Clin Obstet Gynecol* 1976; 19:775-88.
- Carr BR, Disorders of the ovary and female reproductive tract. In *Williams Textbook of Endocrinology* 8th edition 1992; Edited by Wilson JD and Foster DW, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co., 733-798.
- Hall JE. Polycystic ovarian disease as a neuroendocrine disorder of the female reproductive axis. In Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 1993; Edited by Veldhuis JD, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co. 22 (1): 75-92.
- Bonnar J. The hypothalamus and reproductive function. In *The Medical Annual* 1973; Edited by Scott RB and Walker RM, Bristol, England, J. Wright and Sons, 251-258.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 1994. Second edition. Edited by Burtis CA and Ashwood ER, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co. 1846-1850.
- National Institutes of Health. Historical reference range of Luteinizing Hormone. <http://clclinprod.c.nih.gov/dlm/testguide.nsf/Index/A166B3FACB4F69C285256BA4006B37ED?OpenDocument>.

UPOZORNĚNÍ: pro identifikaci různých symbolů slouží níže uvedená tabulka

	Dostačující pro <n>
	Čtěte návod k použití
	Spotřebujte do (datum expirace)
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Upozornění
	Výrobce
	Zplnomocněný zástupce Evropského společenství
	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Skladujte při (omezení teploty)
	Nepoužívejte opakovaně
	Tento produkt splňuje požadavky směrnice 98/79/EC pro diagnostické prostředky in vitro

Technická podpora:
EXBIO OLOMOUC s.r.o.
Tel: 587 301 011
E-mail: info@exbio.com



Boditech Med Incorporated
43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon,
Chuncheon-si, Gang-won-do, 24398
Republic of Korea
Tel: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr

 **Obelis s.a**
Bd. Général Wahis 53,
1030 Brusel, Belgie
Tel: +(32) -2-732-59-54
Fax: +(32) -2-732-60-03
E-Mail:mail@obelis.net

