

β hCG [125 I] IRMA készlet (REF: RK-760CT)

A β hCG [125 I] IRMA készlet humán szérumban koriongonadotropin hormon (hCG) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 1000 mIU/ml mérési tartományban.

Bevezetés

A hCG (human koriongonadotropin hormon) kb. 38000-es molekulatömegű glikoprotein, amelyet a placenta sejteji választanak ki. Hasonlóan a többi glikoprotein hormonhoz (hFSH, hLH, hTSH) a hCG is két különböző alegységből tevődik össze, az alfa és a béta láncból, amelyeket nem kovalens kötések kapcsolnak össze. Az alfa lánc aminosav sorrendje (92 aminosavból áll) gyakorlatilag azonos mind a négy hormon esetében, miközben a béta láncok (145 aminosav) eltérő felépítésűek. Az egyes molekulák biológiai sajátosságaiért a béta láncok a felelősek. Így a hCG tartalom mérése csak akkor specifikus, ha a meghatározás a β -alegységen történik. Az így kapott total β hCG tartalom tehát magába foglalja az intakt hCG molekulákat, valamint az esetleg jelenlévő szabad β alegységet is.

A hCG hormon megjelenik a női szérumban az embrió beágyazódása után körülbelül 5 nappal, és koncentrációja folyamatosan növekszik a terhesség harmadik hónapjáig. A maximális koncentráció akár 100 IU/ml-es értéket is elérhet. A hCG szint ezután lecsökken kb. 30 IU/ml-re, és ezen érték körül marad az utolsó trimeszterig.

A hCG koncentráció emelkedik trofoblasztikus és nem trofoblasztikus neopláziában, illetve korionkarcinómában.

A hCG koncentráció növekedése férfi és nem terhes női szérumban ektópiás hormontermelés eredménye. Ektópiás hCG termelést hepatóma, adenokarcinóma, gyomor, méh, tüdő, here és áttételes mell daganat okozhat.

A mérés elve

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

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

A készlet tartalma

- 1 flakon 125 I-TRACER (21 ml), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 0,5 ml), 0,1 % Kathon CG tartósítósóval. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 5, 20, 80, 300, 1000 mIU/ml. WHO 3d IS referencia preparátumra -ra kalibrálva.
- 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM (1 ml), 0,1 % Kathon CG tartósítósóval. Koncentrációját a

kíséző minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 1 üveg HÍGÍTÓ SZÉRUM (15 ml), 0,1 % Kathon CG tartósítósóval.
 5. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag dobozban.
 6. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, 700 ml desztillált vízzel hígítandó.
- 1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsotartó, rugalmas kémcsörögző kikapcsoló; pipetták (0,05, 0,2 és 2 ml térfogatra, eldobható muanyag hegyekkel); rázógépj; kémcsőzáró muanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

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

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a β hCG meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 28°C -on, későbbi felhasználás esetén -20°C -on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumot ne használjunk mérésre. Terhes szérumok esetében a minták koncentrációja meghaladja a a standardsor mérési tartományát (> 1000 mIU/ml), ezért minden terhes szérumot, valamint a már azonosítottan magas hCG koncentrációjú mintákat hígítsuk a mellékelt hígító szérummal.

A javasolt hígítási eljárás:

1. lépés: 10 μ l minta + 90 μ l hígító szérum (1:10 hígítás)
2. lépés: 10 μ l 1:10 hígított minta (1. lépés alapján) + 240 μ l hígító szérum (1: 250 végső hígítási arány)

A reagensek elokészítése, tárolása

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

A készlet többi komponense az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolható a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két -két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérum (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 50 μ l STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csöbe 200 μ l TRACER oldatot.

4. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsotartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten.
5. Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csotartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
6. Ismételjük meg a mosási lépést kétszer, a 5.pontnak megfelelően.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1.Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	Ell. szérum	Minta
Standard		50		
Ell. szérum			50	
Minta				50
Tracer	200	200	200	200
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cso)				
Adatfeldolgozás				

Az eredmények számítása

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

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Log-log papíron ábrázoljuk a standard koncentrációkhoz tartozó átlag cpm értékeket.

Olvassuk le a mérendő minták koncentrációit a standard görbéről az átlag cpm értékek alapján.

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

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

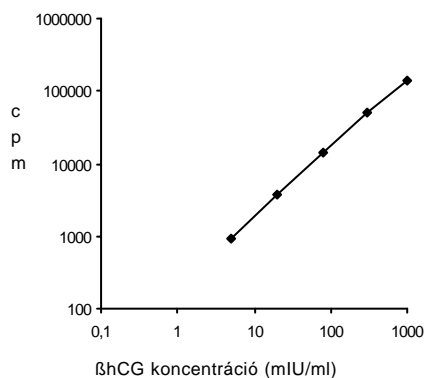
Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez speciálisan immunometrikus assay-re kifejlesztett spline illesztő program használatát javasoljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek

a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valósak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység).

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/T%
T	257532 252984	255258	-
S1	235 222	228	0,09
S2	1122 1236	1179	0,37
S3	4026 4118	4072	1,51
S4	4026 4118	14695	5,67
S5	14796 14594	52357	20,42
S6	51733 52981	136072	53,22
C	139533 132611	27258	10,52



1. ábra
Tipikus standard görbe
(Minta-meghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T < 0,12 %

Specifitás

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

Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 15 párhuzamos mérésből meghatározva 0,08 mIU/ml. Értéke egyenlő a 0-standard B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérummintákhoz ismert mennyiségű βhCG-t adva, a visszanyerés (recovery) 101,99 ± 4,1 % (közéérték ± SD, n=20).

Hígítási teszt (linearity)

Egyedi szérumminták S1 standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt (x) és a mért (y)

koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$Y = 0,9787 x + 1,8981 \quad R = 0,9995 \quad n = 20$$

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 20000 mIU/ml alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 1000-20000 mIU/ml tartományba esik, ezzel a készlettel mérve, a koncentrációját több mint 1000 mIU/ml-nek fogjuk találni.

Pontosság

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

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (mIU/ml)	CV %	átlag (mIU/ml)	CV %
59,69	3,3	151,14	5,1
84,95	2,3	264,84	1,8
149,09	2,4	358,60	2,7
304,02	2,2	512,59	2,7

Várható referens tartomány

Egészséges felnőttek: < 5 mIU/ml

16. hetes terhes szérum:

35 000 mIU/ml (1 MoM)

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

Megjegyzések, tanácsok

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

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

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezeto csövel felszerelt diszpenzerből adagolható, amelyhez legalább 800 ml-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csöveggel az asztalon fekvő kémcsóállvány fölött végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kelloen nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlő pipetta használható.

Egyéb tudnivalók

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

Biztonsági óvórendszabályok

Radioaktivitás

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










Fertőzésveszély

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

Mérgező anyagok

A készlet egyes komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 41 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladékokat nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

A standardok, az ellenőrző szérum és a hígító szérum tartósítására Kathon CG-t alkalmazunk. A készlet összes Kathon CG tartalma 19 mg. A Kathon CG erosen toxikus anyag. A mérgezés a laboratóriumi munkák biztonsági előírásainak betartásával elkerülhető.

	Lejáratási idő	CONTROL	Kontrol
	Gyártási szám	CAL	Standard
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CT	Bevont csó
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás	WASHB	Mosópuffer
	In vitro diagnosztikai eszköz	DIL	Hígító szérum
	Gyártó	REF	Katalógus szám
	Radioaktív anyag		2-8°C-on tárolandó

WEB oldal: <http://www.izotop.hu>
Technikai e-mail: immuno@izotop.hu
Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP

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

