

# hCG [<sup>125</sup>I] RIA

(REF: RK-770CT)

A hCG [<sup>125</sup>I] RIA készlet humán szérumban koriongonadotropin hormon (hCG) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 250 IU/ml mérési tartományban.

## Bevezetés

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 koncentrációja emelkedik trofoblasztikus és nem trofoblasztikus neopláziában, illetve korionkarcinómában.

Jelen RIA készlet kizárólag terhes női szérumban mérésére alkalmas.

## A mérés elve

A készlet működése a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. A <sup>125</sup>I-dal jelzett állandó mennyiségű hCG vetélkedik a mintában jelenlévő (méréndő) jelzetlen hCG-vel a korlátozott számú antitest kötohelyekért. A reakció lejárásakor a reakzív kémcső az antitesthez kötött antigént megköti. A bevont cső felületén lévő jelzett antigén radioaktivitása, amely fordítottan arányos a minta hCG koncentrációjával, gamma-számlálással mérhető.

A standardok relatív kötésiértékei és koncentrációi ismeretében szerkesztett mérő (standard) görbéről, a minták relatív kötésiértékei alapján, azok hCG-koncentrációja meghatározható.

## A készlet tartalma

- 1 üveg <sup>125</sup>I-TRACER (55 ml), pufferes oldat radioaktivitása <260kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 1 üveg ANTISZÉRUM (55 ml), pufferes oldat, 0,1 % nátrium-azid tartósítással.
- 6 üveg STANDARD (6 x 0,4 ml), szérumban, 0,1 % (Kathon CG) tartósítással, koncentrációjuk (S1 - S6): 0; 7; 15; 40; 100; 250 IU/ml (WHO 4th IRP 75/589-re kalibrálva).
- 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM, 0,4 ml humán szérumban, 0,1 % Kathon CG tartósítással. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.

- 1 db Minőségellenőrzési bizonylat
- 1 db Használati utasítás

## A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben; pipetták (25, 500 µl térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismételő) pipetta

## A mérendő minták gyűjtése és tárolása

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

## A reagensek elokészítése, tárolása

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

## FIGYELEM!

A mérés megkezdése előtt a reagens oldatokat, és a mérendő mintákat is engedjük szobahőmérsékletre melegedni majd alaposan homogenizáljuk őket, de kerüljük el a habzást.

## A meghatározás menete

(ld. Folyamatábrára, 1. Táblázatra)

1. Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérumban (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 25 µl STANDARD-ot, ill. ELLENORZO SZÉRUM-ot, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 500 µl TRACER oldatot.
4. Mérjük minden csőbe 500 µl ANTISZÉRUM oldatot, kivéve a T jelű csöveket.
5. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba, fedjük le őket légmentesen műanyag fóliával. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten.
6. A csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 5 percig.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

## Az eredmények számítása

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Számítsuk ki a  $B_0/T$ -t az alábbi egyenlettel:

$$S_1 \text{ (cpm)}$$

$$B_0/T\% = \frac{S_1}{T} \times 100$$

Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérumban és a minták kötési százalékát az alábbi egyenlettel:

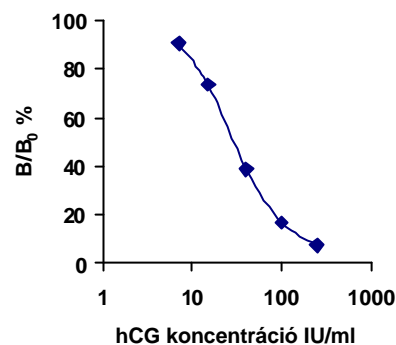
$$S_{2-6} / C / M_x \text{ (cpm)}$$

$$B/B_0(\%) = \frac{S_{2-6} / C / M_x}{S_1} \times 100$$

Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított  $B/B_0$  értékeket a standard koncentrációjának függvényében. Egy jellemző standardgörbét mutat az 1. ábra. Az így kapott standard görbéről (mérésgörbéről) olvassuk le a vizsgált minta  $B/B_0$  értékeihez tartozó koncentrációt.

1. Táblázat Folyamatábrára, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	C	M
Standard		25		
Ell. szérumban			25	
Minta				25
Tracer	500	500	500	500
Antiszérumban		500	500	500
Kevertetés, 1 óra szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cso)				
Adatfeldolgozás				



1. ábra  
Jellemző standard görbe  
(Mintamérésre nem használható!)

A korszerű mérőeszközök lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen kézikönyvhöz a négyzetes logit-log illesztő program használatát javasoljuk.

Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. Táblázat.

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B <sub>0</sub> /T %	B/B <sub>0</sub> %
T	103449 102245	102847		
S1	72967 72870	72918	70,9	100
S2	65706 66325	66016	64,2	90,5
S3	54584 52606	53595	52,1	73,5
S4	28614 27692	28153	27,4	38,6
S5	12465 11788	12127	11,8	16,6
S6	5512 5303	5408	5,3	7,4
C	33432 33956	33694	32,8	46,2

## Minőségi jellemzők

### Az assay jellemző paraméterei

B<sub>0</sub>/T = 67 ± 8%  
ED-50: 32,8 – 32,8 IU/ml

### Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 15 párhuzamos mérésből meghatározva 1,25 IU/ml. Értéke egyenlo a 0-standard B<sub>0</sub> - 2\*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

### Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitesttel nem tapasztalható keresztreakció normál fiziológiás koncentrációban lévo hTSH, hFSH és hLH hormonokkal

### Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérumszámokhoz ismert mennyiségű hCG-t adva, a visszanyerés (recovery)

98,51 ± 4,6 % (közéérték ± SD, n=30).

### Hígítási teszt (linearity)

Egyéni szérumszámok S1 standarddal végzett sorozat-hígításokor a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$Y = 1,0095 x + 0,7158 \quad R = 0,9996 \quad n = 22$

### Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 15 független mérésben értékelve, 7 mintára az alábbi adatokat kapjuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (IU/ml)	CV %	átlag (IU/ml)	CV %
5,06	6,5	4,67	8,3
17,40	5,5	17,17	3,0
32,93	2,9	32,57	3,7
50,49	3,9	49,07	3,9
80,13	2,7	78,38	3,6
102,31	3,0	102,01	3,7
197,36	7,2	203,19	4,4

## Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közönséges 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. "Lötyögös" 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 magas!) mérési eredményekhez vezethet!

## Az assay korlátai

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

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

**A megfelelő, validált szoftver nélkül ezen készlet nem alkalmas a triszómia 21 kockázatának meghatározására!**

## 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 lévo humán szérumszámot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumszám HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumszámot tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

### Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 110 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

A standardok és az ellenőrző szérumszám tartósítására Kathon CG-t alkalmazunk. A készlet összes Kathon CG tartalma 2,8 mg. A Kathon CG erosen toxikus anyag. A mérgezés a laboratóriumi munkák biztonsági előírásainak betartásával elkerülhető.

	Lejáratási idő	<b>LOT</b>	Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó	<b>CONTROL</b>	Kontrol
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	<b>CAL</b>	Standard
	Biológiai veszély	<b>CT</b>	Bevont cső
	Lásd használati utasítás	<b>TRAC</b>	Tracer
	In vitro diagnosztikai eszköz	<b>AS</b>	Antisérumszám
	Gyártó		
	Katalógus szám		
	Radioaktív anyag		



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

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

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

**IZOTOP**

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