

hFSH [¹²⁵I] IRMA készlet

(REF: RK-790CT)

A hFSH [¹²⁵I] IRMA készlet humán szérumban follitropin (hFSH) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 180 mIU/ml mérési tartományban.

Bevezetés

A hFSH (human folliculus stimuláló hormon) vagy más néven follitropin kb. 30000-es molekulatömegű glikoprotein típusú hormon, amelyet az agyalapi mirigy sejtjei választanak ki. Hasonlóan a többi glikoprotein hormonhoz (hLH, hTSH, HCG) a hFSH is két különböző alegységből tevődik össze, az α- és a β-láncból, amelyeket nem kovalens kötések kapcsolnak egybe. Az α-lánc aminosav sorrendje gyakorlatilag azonos mind a négy hormon esetében, miközben a β-láncok eltérő felépítésűek. Az egyes molekulák biológiai sajátosságaiért így a β-láncok a felelősek.

A hFSH a nemi mirigyekre ható gonadotrop hormon.

Férfiak esetében az androgének szekrécióját serkenti, a női szervezetben a peteérés normális lefolyását és a sárgatest kifejlődését szabályozza. A hipotalamusz - hipofízis - gonad szabályozórendszer zavarainak vizsgálatában a szérumban hFSH koncentrációjának mérése fontos információkkal szolgál.

A mérés elve

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

A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. 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 ¹²⁵I-TRACER (21 ml), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz
- 6 üveg STANDARD, (6 x 1 ml) 0,1 % nátrium-azid tartósítással. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 0,55; 2,7; 13,5; 50; 180 mIU/ml. WHO 2nd IS 78/549 -re kalibrálva.
- 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM, liofilizált, 0,1 % nátrium-azid tartósítással, rekonstituálható 1 ml desztillált vízzel. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag dobozban

5. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítással, 700 ml desztillált vízzel hígítandó

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsotartó, rugalmas kémcsőörögzőtő kiképzésben; pipetták (0,1, 0,2 és 2 ml térfogatú, eldobható muanyag hegyekkel); rázógépek; 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 az FSH meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

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

A reagensek elokészítése, tárolása

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

A liofilizált ellenőrző szérumot rekonstituáljuk 1 ml desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot 20 percig még ne használjuk fel. A rekonstituált oldatok -20°C-on a készlet lejáratáig tárolhatók.

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

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérum (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 100 µl STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csöbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsotartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten.

5. Adjunk minden csövhöz 2 ml mosópuffert, majd a csotartót fejfelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülülőszót, 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	C	M
Standard		100		
Ell. szérum			100	
Minta				100
Tracer	200	200	200	200
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
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:

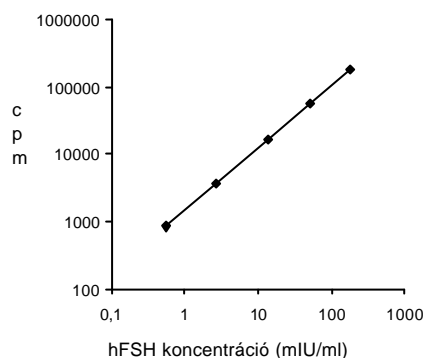
$$B/T (\%) = \frac{S2-6/Mx / (cpm) - S1(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

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

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez speciálisan immunometrikus assayre kifejlesztett spline illesztő program használatát javasoljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valószínűk, 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	305314 309164	307239	-
S1	124 158	141	0,05
S2	826 876	851	0,28
S3	3477 3794	3635	1,18
S4	16543 17210	16876	5,45
S5	57365 55287	56326	18,3
S6	178450 172697	175574	56,9
C	$1^{125}I$ 10759	11007	3,57



1. ábra

Tipikus standard görbe, (Mintameghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

B_{max}/B_0	>850
NSB	<0,07%

Specifititás

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

Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 20 párhuzamos mérésből meghatározva < 0,02 mIU/ml. Értéke egyenlő a 0-standard $B_0 + 2 \cdot SD$ kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 1000 mIU/ml alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 180-1000 mIU/ml tartományba esik, ezzel a készlettel mérve, a koncentrációját több mint 180 mIU/ml-nek fogjuk találni.

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérummintákhoz ismert mennyiségű hFSH-t adva, a visszanyerés (recovery) $97,3 \pm 3,5\%$ (közéérték $\pm SD$, n=10).

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamosan, 20 független mérésben értékelve, 4 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (mIU/ml)	CV %	átlag (mIU/ml)	CV %
0,24	6,1	1,68	3,7
6,5	2,5	6,7	2,7
26,0	0,7	26,2	1,3
84,6	3,0	84,0	1,9

Várható referens tartomány

férfiak: 1,0 - 10,5 mIU/ml

nok: ovulációs csúcs: 4,0 - 13,5 mIU/ml

pre- és postovuláció: 0,6-9,5 mIU/ml

postmenopausa: 30 - 135 mIU/ml

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

Megjegyzések, tanácsok

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

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

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

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó FSH 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 komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 250 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

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



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