

Szabad β hCG [125 I] IRMA készlet

(REF: RK-820CT)

A szabad β hCG [125I] IRMA készlet humán szérumban koriongonadotropin hormon szabad β alegység (free β hCG) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 100 mIU/ml mérési tartományban.

Bevezetés

A human koriongonadotropin hormon (hCG) egy kb. 38000 molekulatömegű glikoprotein, amelyet normális esetben a placenta trofoblaszt sejtejei termelnek.

Az intakt hormon két alegységből, a glikoprotein hormonok közös α -alegységből és a biológiai - immunológiai specifikus β -alegységből állnak. A keringésben mind a két alegység szabad formájában is jelen van.

Egészséges terhesség során az anyai szérumban szabad β -alegység koncentrációja exponenciálisan növekszik egészen a terhesség 10. hetéig, majd fokozatosan csökken. A maximális koncentráció a 100 mIU/ml-t elérheti.

Az anyai szérumban szabad β -alegység tartalmának növekedése specifikus és érzékeny markere lehet a terhességi trofoblaszt neopláziáknak, így a mola hydatidosának (mind az invazív, mind a noninvazív), koriokarcinómának.

A 21-es kromoszóma trisómiájával járó Down-szindrómát ugyancsak magas β -alegység koncentráció kíséri. Így ennek monitorozása különösen fontos lehet a Down-szindrómás magzatok első trimeszteri szűrésében.

A mérés elve

A készlet működése a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) elvén alapul. 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).

Jelen készletben az immunometrikus assay azon változatát alkalmazzuk, amelyben a standardokban, illetve a mintákban lévő hormon koncentrációját két lépésben határozzuk meg. Az első lépés során az antigén a specifikus capture antitesttel immunokomplexet hoz létre, mely a reaktív kémcső felületén kötődik meg. A reakció lejátszódása után a csöveket kimossuk, ezzel eltávolítva a fölös reagenseket, valamint a minta keresztreakcióra képes molekuláit. Ezt követően 125 I jelzett traceret adunk a csövekhez, melynek jelző antitestjei a második inkubálási lépés során hozzákötődnek az antigén szabadon maradt epitopjához, így kialakítva a szendvicsszerű immunokomplexet. A második inkubálási lépést követő mosás után gamma számlálóval mérjük a radioaktivitást.

A kémcsövekben 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. 1 flakon 125 I-TRACER (32 ml), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.

2. 1 flakon ANTISZÉRUM (21 ml), pufferes oldat, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.

3. 6 üveg STANDARD (6 x 0,5 ml), 0,1 % Kathon CG tartósítósóval. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 0,1, 0,5, 2, 10, 100 mIU/ml. Kalibrálva az IRP 75/551 (NIBSC/WHO) standardra.

4. 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM (1 ml), 0,1 % Kathon CG tartósítósóval. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

5. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.

6. 2 flakon MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (2 x 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 kiképzésben; pipetták (50, 200, 300 és 2000 μ l térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógépj; kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1,5 literes folyadékedénnyel, 2 ml adagolási térfogatra

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a free 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 homogénizáljuk. 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 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 doboz címkén van feltüntetve.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

- Jelöljük meg két -két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenorzo szérumban (C); vizsgálandó minták (M).
- Mérjük meg 50 μ l STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMot, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
- Mérjük meg minden csövebe 200 μ l ANTISZÉRUM oldatot.
- Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsotartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten.
- Adjunk minden csövhöz 2 ml mosópuffert, majd a csotartót fejjel lefelé fordítva,

egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülülzót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percre.

- Ismételjük meg a mosási lépést az 5.pontnak megfelelően.
- Mérjük meg minden csövebe 300 μ l TRACER oldatot.
- Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsotartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten.
- Adjunk minden csövhöz 2 ml mosópuffert, majd a csotartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülülzót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percre.
- Ismételjük meg a mosási lépést a 9.pontnak megfelelően.
- 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. szérumban	Minta
Standard		50		
Ell. szérumban			50	
Minta				50
Antiszérumban	200	200	200	200
Kevertetés, 1 óra szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Tracer	300	300	300	300
Kevertetés, 1 óra szobahőmérsékleten				
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:

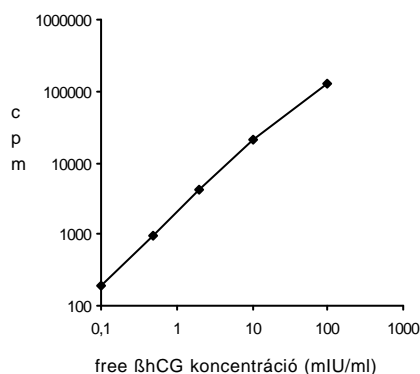
$$B/T (\%) = \frac{S2-6/C/Mx/ (cpm) -S1(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

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 ("on-line") 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 valószínűk, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység).

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csövek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/T%
T	307023 304769	305896	-
S1	275 245	260	0,09
S2	462 445	454	0,06
S3	1257 1215	1236	0,32
S4	4369 4386	4377	1,35
S5	21050 21309	21179	6,84
S6	131921 131102	131512	42,91
C	25652 26316	25984	8,41



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

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T < 0,3 %

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 0,02 mIU/ml. Értéke egyenlő a 0-standard B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérumszámokhoz ismert mennyiségű free beta-hCG-t adva, a visszanyerés (recovery) 99,2 ± 5,5 % (középpérték ± SD, n=10).

Hígítási teszt (linearity)

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

$$Y = 1,015 x - 0,0316 \quad R = 0,9995 \quad n = 20$$

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 2500 mIU/ml alatt nem jelentkezik.

Pontosság

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

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (mIU/ml)	CV %	átlag (mIU/ml)	CV %
4,93	1,8	4,69	4,1
9,02	1,1	8,63	3,6
14,33	3,4	12,8	5,4
41,38	1,1	38,0	9,0

Várható referens tartomány

Egészséges felnőttek: < 0,1 mIU/ml

16. hetes terhes szérum:

14 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 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 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 alacsony!) mérési eredményekhez vezethet!

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerből adagolható, amelyhez legalább 1,5 l-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővel az asztalon fekvő kémcsóállvány 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 fre beta-hCG készletének komponenseivel.

Biztonsági óvrendszabályok

Radioaktivitás

A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során ill. a védőeszközök 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 93 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 szérum tartósítására Kathon CG-t alkalmazunk. A készlet összes Kathon CG tartalma 4 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 cső
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás	WASHE	Mosópuffer
	In vitro diagnosztikai eszköz	AS	Antiszérum
	Gyártó		Radioaktív anyag
REF	Katalógus szám		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

