

## INZULIN [I-125] IRMA készlet (REF: RK-400CT)

Az inzulin [<sup>125</sup>I] IRMA készlet humán szérumból készült inzulin tartalmának direkt meghatározására szolgál. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 42 minta inzulin koncentrációja határozható meg, a 1.8 - 500 µIU/mL mérési tartományban.

### Bevezetés

Az inzulin könnyű polipeptidhormon (molekulatömeg: ~6000), amely a hasnyálmirigy β-sejtjeiben képződik egy 86 aminosavból álló prekurzorból, a proinzulinból. A proinzulin enzimetikusan felhasad inzulinra és C-peptidre, amelyek ekvimoláris mennyiségben tárolódnak a hasnyálmirigyben, illetve szabadulnak ki onnan a véráramba. Az inzulin két polipeptid molekulából, az A (21 aminosav) és B (30 aminosav) láncból tevődik össze, amelyek két diszulfidhíddal kapcsolódnak egymáshoz. Míg a C-peptid aminosav-szekvenciájában a különböző emlős fajoknál igen nagy eltérések észlelhetők, az inzulinnál ugyanezek az eltérések csekélyek. Így például a sertés-, illetve marhainzulin mindössze egy, illetve három aminosavban különbözik az emberi inzulintól.

Az inzulin a legfontosabb anyagcserehormon, amely számos közvetlen és közvetett hatást gyakorol a szervezetre. Általános hatása az, hogy stimulálja az energiaellátásban és az anyagcsere-folyamatok szabályozásában szerepet játszó makromolekulák szintézisét és felhalmozódását. Növeli a glükóz átaramlási sebességét a sejtmembránokon keresztül. Segíti más monoszacharidok, aminosavak, zsírsavak, K<sup>+</sup> és Mg<sup>2+</sup> ionok bejutását a sejtekbe.

Az inzulin elősegíti továbbá a glükóz hasznosítását és oxidációját, a glikogenezist, a lipogenezist és proteogenezist, valamint az ATP, DNS és RNS képződését. Az inzulin stimulálja ezeket a folyamatokat az izmokban, a májban és a zsírszövetekben, de nem stimulálja a glükóztranszportot a vörösvérsejtekbe és az agyba, reabszorpcióját a vesetubulusokban és a bélnyálkahártyán.

### 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 radiojóddal jelzett ("szignál" antitest), a másikuk jelöletlen (ún. "capture" antitest). A bevont csöves rendszerek jelen változatban az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén, mint szilárd fázison kötődik meg. 2 óras reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálással 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 <sup>125</sup>I-TRACER, felhasználásra kész Radioaktivitása <980 kBq, 21 mL pufferes oldat, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (S0-S5), liofilizált. Ló szérumból, 0,1 % NaN<sub>3</sub> tartósítással. Rekonstituálendő 1,0 mL desztillált vízzel. Konc.: 0, 5, 15, 50, 150, 500 µIU/mL. A pontos koncentrációk a címkéken találhatóak.
- 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM, liofilizált, humán szérumból, 0,1 % NaN<sub>3</sub> tartósítással. Rekonstituálendő 1,0 mL desztillált vízzel. Várható értékeiket a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.
- MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 mL), 0,2 % NaN<sub>3</sub> tartósítással, 1000 mL desztillált vízzel hígítandó.  
1 db Minőségellenőrzési bizonylat  
1 db Használati utasítás

### A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Műanyagcsövek és kémcsőtartó, adagoló mikropipetták; 100, és 200 µL-es eldobható műanyag hegyekkel, rázógép, orbitális keverő, papírvatta, gamma-számláló.

*Ajánlott:* folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadék-edényel, 2 mL adagolási térfogatra (ekkor a 2 mL-es ismétlő pipettára nincs szükség)

### A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérummintákat a más, ugyancsak szérumból igénylő laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben a meghatározás a mintavétel követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8 °C-on, későbbi felhasználás esetén -18 °C-on mélyhűtve tartjuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumból nem használunk mérésre.

### A reagens előkészítése, tárolása

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

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 1000 mL desztillált vízhez. A hígított mosóoldatot 2-8 °C -on tároljuk a készlet lejárati idejéig. Adjunk a liofilizált standardhoz és ellenőrző szérumhoz 1 mL desztillált vizet, és homogenizáljuk örvénykeverővel. Ügyeljünk a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot legalább 20 percig még ne használjuk fel.

A rekonstituált standardok és az ellenőrző szérumból -20 °C-on tárolandó további felhasználás esetén a kit lejárati ideig.

**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. Folyamatábra, 1. Táblázat)

- 1) Jelöljük meg két-két bevont csövet a standardok, az ellenőrző szérumból és a minták számára. A totál beütésszám mérésére két nem bevont csövet célszerű feliratozni.
- 2) Homogenizáljunk minden reagenst és a mérendő mintákat enyhe vortexeléssel, ügyelve a habzás elkerülésére.
- 3) Pipetázzunk be 100 µL standardot, ellenőrző szérumból és mintát a megfelelően jelölt bevont csövek aljába. Használjunk olyan csőtartó állványt, amely szorosan tartja, elmozgás-mentesen a csöveket.
- 4) Pipetázzunk be 200 µL tracet minden csöbe. A totál csöveket ezután tegyük félre, mert csak a gamma számlálásnál lesz szükség rájuk.
- 5) A csőtartó állványt rögzítsük a rázógép tálcájára, gumi leszorítóval vagy más módon stabilan. A beállított RPM 600 felett adja a legalkalmasabb keverési módot, de a rázógép típusától függően ettől eltérhetünk (ajánlott rázatási sebesség: 200 – 600 RPM).
- 6) Inkubáljunk 2 órán át, rázatás közben szobahőmérsékleten (20 – 28 °C).
- 7) Adagoljunk 2 ml hígított mosópuffert minden csöbe. Ezt követően vízszögű szivattyúval leszívathatjuk a csöben levő folyadék egyet vagy egyszerűen dekantálhatjuk a csöveket. Dekantálás: csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót. A tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig. Győződjünk meg arról, hogy a cső peremén nem maradtak folyadék cseppek.
- 8) Ismételjünk meg a 7-es lépést még kétszer.
- 9) Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gammaszámlálással legalább 1 perces számlálási idővel.
- 10) Értékeljük ki a minta koncentrációkat grafikus módon vagy a számláló szoftver segítségével.

### 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 adatkéértékelésekhez, 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 S0 beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

$$B/T (\%) = \frac{S_{1-5}/M_x / (\text{cpm}) - S_0(\text{cpm})}{T (\text{cpm})} \times 100$$

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is.

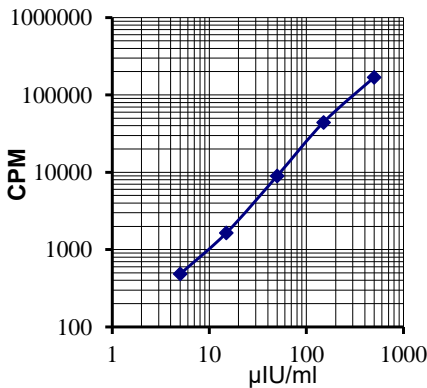
**Folyamatúbra, pipettázási kalauz**  
(térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S5	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/cső)				
Adatfeldolgozás				

**Jellemző mérési eredmények**

Csővek	Átlag cpm	B/T %	μIU/mL
T	381475		
S0	124	0	
S1	484	0,1	
S2	1650	0,4	
S3	8988	2,4	
S4	44294	11,6	
S5	169191	44,4	
C	6678		40,1

**Jellemző standard görbe**



**Minőségi jellemzők**

**Kalibráció**

A készlet munka-standardjai az NIBSC 66/304 nemzetközi referencia-preparátumra kalibráltak.

**Érzékenység**

Meghatároztuk a Limit of Blank (LoB), Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantitation (LoQ) érzékenységi mutatókat is a CLSI EP17 előírás szerint.

Limit of Blank (LoB): 0,82 μIU/mL  
Limit of Detection (LoD): 1,23 μIU/mL  
Limit of Quantitation (LoQ): 1,8 μIU/mL

**Specifititás**

A keresztreaktivitás a humán proinzulinnal < 0,5%, és 986 ng/ml koncentrációig nincs C-peptid interferencia. A Degludec, Lispro, Glulisine, Aspart és Detemir esetében az inzulin analógokkal való keresztreaktivitás nem kimutatható. A Glarginnal való keresztreakció 9,9%.

**Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")**

A mérés során 6 db egyedi humán szérum mintába ismert mennyiségű Inzulint vittünk be három különböző koncentrációban és vizsgáltuk a kiindulási és a megemelkedett koncentráció szinteket. Az átlag visszanyerés 95,1% (80.6% – 101.5%).

**Hígítási teszt (linearity)**

32 széruminta nulla standarddal végzett kétszeres hígításakor a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$Y = 0,9182X - 0,5741 \quad R^2 = 0,9933$$

Az átlagos hígítási visszanyerés 90,2% volt (81,7% - 105,3%).

**Pontosság és reprodukálhatóság**

Az intraassay pontosságot 15 párhuzamossal egy sorozaton belül, 5 szérum mintával végezve az alábbi adatokat kaptuk:

Minta	Átlag μIU/mL	SD	CV %
1	5.41	0.23	4.2
2	13.83	0.33	2.4
3	45.10	0.36	0.8
4	89.43	3.93	4.4
5	149.2	1.19	0.8

Az interassay pontosságot 2 párhuzamossal, 2 technikus által 15 független mérésben értékelve az alábbi adatokat kaptuk.

Minta	Átlag μIU/mL	SD	CV %
1	4.7	0.77	16.5
2	20.9	0.90	4.3
3	40.4	0.95	2.3
4	65.0	1.45	2.2
5	102.2	3.07	3.0
6	152.6	4.86	3.2

**Interferencia**

A CLSI EP7-A2 Guide alapján elvégzett interferencia vizsgálat azt mutatta, hogy a minták 262 μmol/L bilirubin, 32,1 mmol/L triglycerid, 4,7 g/L haemoglobin és 100 ng/mL biotin tartalom esetén nem befolyásolják a mérendő inzulin koncentrációt.

**Várható referens tartomány**

100 páciens éhgyomri szérum mintájának és 120 vélhetően egészséges vradó nem éhgyomri szérum mintájának inzulin koncentráció szintjét megvizsgálva az alábbi adatokat kaptuk:

	Minták	Medián (μIU/mL)	95% közép tartomány (μIU/mL)
Éhgyomri	100	5,15	1 – 30
Nem éhgyomri	120	14,15	3 - 67

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

**Hook effektus**

Nem lép fel nagy dózisu hook effektus 2500 μIU/mL inzulin koncentrációig.

**Átszámítás az SI mértékegységről**

1 ng/mL = 28,7 μIU/mL  
1 nmol/L = 166,69 μIU/mL  
1 μIU/mL = 5,99 pmol/L

**Egyéb tudnivalók**

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

**Biztonsági és óvórendszabályok**

**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 kitben levő humán szérumot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV(1/2) antitest, HBsAg antigén, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest 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. Minden állati terméket és származékot egészséges állatokból nyertek. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reagenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni!

**Mérgező anyagok**

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 68 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.

**Tárolás**

A készlet komponensei 2-8°C között tárolhatók a 67 napos lejárati időn belül.



Lejárati idő



Gyártási szám



2-8°C-on tárolandó



Kontrol



Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok



Standard



Biológiai veszély



Tracer



Lásd használati utasítás



Mosópuffer



In vitro diagnosztikai eszköz



Bevont cső



Gyártó



Radioaktív anyag



Katalógus szám



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

Technikai email: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

Kereskedelmi email: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)



IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247

Aktualizálva: 2023.03.24.