

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

A BhCG [¹²⁵I] 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 mólsúlyú glikoprotein, amelyet a placenta sejtjei 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 BhCG 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 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 kémcsővekben 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 < 980kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 0,5 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítóval. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 5, 20, 80, 300, 1000 mIU/ml. WHO 3d IS referencia preparátumra kalibrálva.

3. 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM (1 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítóval. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 1 üveg HÍGÍTÓ SZÉRUM (15 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítóval.

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

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

1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörögzítő kiképzésben; pipetták (0,05, 0,2 és 2 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőszáró műanyag 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 BhCG 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. Terhes szérumok esetében a minták koncentrációja meghaladja 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 µl minta + 90 µl hígító szérum (1:10 hígítás)
2. lépés: 10 µl 1:10 hígított minta (1. lépés alapján) + 240 µl hígító szérum (1: 250 végső hígítási arány)

A reagensek előkészítése, 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 meg 50 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.

3. Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó 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 csőtartót 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/cső)				
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:

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

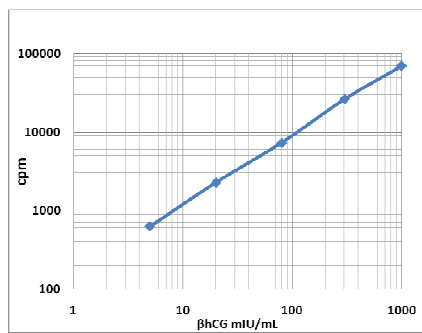
Egy jellegzetes mérési adatsort foglalj össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

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	Átlag cpm	B/T%	βhCG mIU/ml
T	386282		
S1	103		0
S2	628	0,136	5
S3	2278	0,563	20
S4	7331	1,871	80
S5	26372	6,800	300
S6	69725	18,024	1000
C	2831	0,706	25,65



1. ábra
Tipikus standard görbe

(Minta-meghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T < 0,3 %

Specifititás

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 0,651 mIU/ml. Értéke egyenlő a 0-standard B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

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

Hígítási teszt (linearity)

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

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

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 140000 mIU/ml alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 1000-140000 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 átlag (mIU/ml)	CV %	Inter-assay 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 férfiak: < 5 mIU/ml
Nők pre-menopauza: < 5 mIU/ml
post-menopauza: < 10 mIU/ml
16. hetes terhes szérumszám:
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. Közönséges 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 "meggyűrűzni").

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsőtartó 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. Egyenetlen, 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 800 ml-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölött végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kellően 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 óvrendszabályok

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 szérumszám tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumszám HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumszám 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 60 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 **DIL** Hígító szérumszám



Gyártó **REF** Katalógus szám



Radioaktív anyag **2-8°C** 2-8°C-on tárolandó



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

IZOTÓP INTÉZET Kft.
1535 Budapest, Pf.: 851.
Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247
01450

Módosítva: 2014.01.31