

## hFSH [ <sup>125</sup>I ] IRMA készlet (REF: RK-790CT)

A hFSH [<sup>125</sup>I] IRMA készlet humán szérumból (hFSH) tartalmazó *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 150 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 szérumból 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. 1 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 <sup>125</sup>I-TRACER (21 mL), pufferes oldat radioaktivitása < 740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz
- 6 üveg STANDARD, (6 x 1 mL) 0,1 % nátrium-azid tartósítóval, marhaszérumból mátrixban. A pontos koncentrációk az üvegek címkéin vannak feltüntetve. WHO 92/510 -re kalibrálva.
- 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM, liofilizált, 0,1 % nátrium-azid tartósítóval, 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 műanyag dobozban

5. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 mL), 0,2 % 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 kémcsőrogzító kiképzésben; pipetták (0,1, 0,2 és 2 mL térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzározó műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

### Ájánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadékdedénnel, 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 előkészítése, tárolása

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

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 oldatot -20°C-on a készlet lejárataig tárolhatók.

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 100 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban

legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten (min. 600 rpm).

5. Adjunk minden csőhöz 2 mL mosópuffert, majd a csőtartót fejfelé 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 egyszer, 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, 1 óra szobahőmérsékleten				
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 értékeket osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

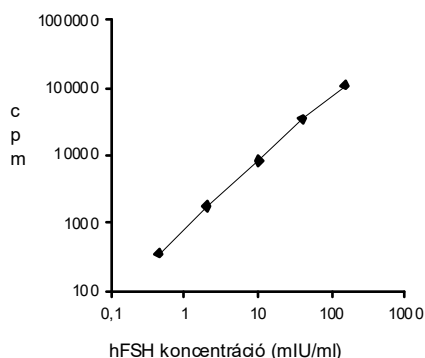
$$B/T (\%) = \frac{S2-6/Mx / (cpm) - S1(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

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

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Átlag cpm	B/T%
T	308164	-
S1	59	0,02
S2	364	0,12
S3	1810	0,59
S4	8414	2,73
S5	34174	11,1
S6	107452	34,9
C	7652	2,48



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

## Minőségi jellemzők

### Az assay jellemző paraméterei

NSB / T < 0,1 %

### Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestekkel nem tapasztalható keresztreakció normál fiziológiás koncentrációban levő hTSH, hLH és hCG hormonokkal.

### Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 20 párhuzamos mérésből meghatározva < 0,08 mIU/mL. Értéke egyenlő a 0-standard B0+2\*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

### Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 100000 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 ± 3,5% (közéérték ± SD, n=10).

### Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 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

### Hígítási teszt:

3 egyéni szérumminta nulla standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt (x) és a mért (y) koncentráció érték között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$Y = 1,0222X + 0,04 \quad R = 0,9998 \quad n = 12$$

### Várható referens tartomány

férfiak: 1,0 - 10,5 mIU/mL

nők: 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 feliratot. Közöséges 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 kémcsötört 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 diszpenzerből adagolható, amelyhez legalább 1 l-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölért 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 FSH készletének komponenseivel.

## Biztonsági óvrendszabályok

### Radioaktivitás

A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során ill. a védőesomagolás 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.

A szarvasmarhából származó komponensek olyan országokból származnak, amelyekben szivacsos szarvasmarha agyvelőgyulladásos eseteket nem regisztráltak. 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.



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** 2-8°C-on tárolandó



Gyártó **REF** Katalógus szám



Radioaktív anyag



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

Technikai e-mail: <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