

Szabad β hCG [I-125] IRMA (REF: RK-820CT)

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

Bevezetés

A human koriongonadotrop hormon (hCG) egy kb. 38000 molekulatömegű glikoprotein, amelyet normális esetben a placenta trofoblaszt sejtei termelnek. Az intakt hormon két alegységből, a glikoprotein hormonoknak közös α -alegységből és a biológiai/immunológiai specifitásáért felelős β -alegységből állnak. A keringésben mind a két alegység szabad formája is jelen van.

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

A szérum szabad β -hCG tartalmának növekedése specifikus és érzékeny markere lehet a terhességi trofoblaszt neopláziáknak, így a mola hydatidosának (mind az invazív, mind a noninvazív) és a korionkarcinómának.

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 epitópját ismerik fel. A két antitest egyike radiojóddal jelzett (jelző antitest), a másikuk jelületlen (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 epitópjához, így kialakítva a szendvicseknek nevezett 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 flakon ^{125}I -TRACER (32 mL), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 1 flakon ANTISZÉRUM (21 mL), pufferes oldat, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 0,5 mL), 0,1 % nátrium-azid tartósítóval. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 0,1, 0,5, 2, 10, 100 mIU/mL. Kalibrálva az IRP 75/551 (NIBSC/WHO) standardra.

4. 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM (1 mL), 0,1 % nátrium-azid tartósítóval. 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), 0,2 % 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 (50, 200, 300 és 2000 μ l térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőszáró 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 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 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 50 μ l STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csöbe 200 μ l ANTISZÉRUM oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten (min.200 - 600 rpm).
5. Adjunk minden csövhöz 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 az 5.pontnak megfelelően.

7. Mérjük minden csöbe 300 μ l TRACER oldatot.
8. Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten (min. 200 - 600 rpm).
9. Adjunk minden csövhöz 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.
10. Ismételjük meg a mosási lépést a 9.pontnak megfelelően.
11. 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
Antiszérum	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/cső)				
Adatfeldolgozás				

Az eredmények számítása

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:

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

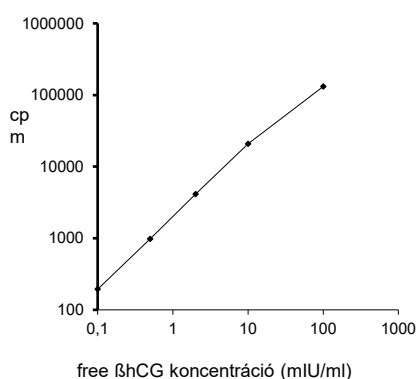
Egy jellegzetes mérési adatsort foglalj össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("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 valósak, 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	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

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

Pontosság

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

Hígítási teszt (linearity)

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

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

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

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

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 2500 mIU/mL alatt nem jelentkezik.

Várható referens tartomány

Egészséges (nem terhes) felnőttek: < 0,1 mIU/mL

Terhességi hét	1MOM mIU/mL)	N
10	51,19	6
11	44,67	163
12	38,9	821
13	34,4	399

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

A kapott eredményeket csak az általános klinikai képpel összhangban lehet értelmezni. Bármely betegség vagy rendellenesség bizonyítására egyetlen *in vitro* diagnosztikai készlet sem használható!

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közönséges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibához 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 írótollal "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 diszpenzertől adagolható, amelyhez legalább 1,5 l-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölött végig haladva 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 free-beta-hCG 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 szérumszámot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumszám HIV(1/2) antitest, HBsAg antigén, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumszámot 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 egyes komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 137 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 60 napos lejárati időn belül.



Lejárati 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 **AS** Antisérumszám



Gyártó **Radioaktív anyag**



Katalógus szám **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

IZOTOP

IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

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

Aktualizálva: 2023. május