

TurboTSH [¹²⁵I] IRMA készlet (REF: RK-1CT5)

A hTSH [¹²⁵I] IRMA készlet humán szérum Tireoidea Stimuláló Hormon (tireotropin, hTSH) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 100 µIU/ml mérési tartományban.

Bevezetés

A hTSH (Thyreoidea Stimulating Hormone) vagy más néven tireotrop hormon kb. 28000-es molsúlyú glikoprotein típusú hormon, amelyet az agyalapi mirigy sejtjei (az ún. tiotropok) választanak ki. Hasonlóan a többi glikoprotein hormonhoz (hFSH, hLH, hCG) a hTSH is két különböző alegységből tevődik össze, az α és a β láncból, amelyeket nem kovalens kötések kapcsolnak egybe. Az α-lánc aminosav sorrendje (96 aminosavból áll) gyakorlatilag azonos mind a négy hormon esetében, a β-láncok (113 aminosav) viszont eltérő felépítésűek. Az egyes molekulák biológiai sajátosságaiért így a β-láncok a felelősek.

A TSH elsődleges élettani funkciója a pajzsmirigy hormontermelésének szabályozása. Szintézisét és felszabadulását a hipotalamik TRH (Thyreotrop Releasing Hormone) stimulálja, míg a pajzsmirigy-hormonok (tiroxin, T4 és trijód-tironin, T3) negatív visszacsatolással szabályozzák. A keringő T4 és T3-hormonok koncentrációjának bármilyen megváltozása a TSH plazmaszintjének ellen-tétes irányú változásával jár. A TSH koncentráció meghatározása központi szerepet játszik a népbetegségnek számító pajzsmirigy-rendellenességek laboratóriumi diagnosztikájában.

A TSH mérőrendszerek minőségének legfőbb mutatója az érzékenység, amely elsősorban a hipertireózis-diagnosztikában való alkalmazásukat szabja meg. E tekintetben a készlet az immunoradiometrikus assay egyik legérzékenyebb képviselője; kiemelkedő funkcionális érzékenysége és pontossága alapján kiválóan használható szubnormális TSH-koncentrációk mérésére.

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 változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén, mint szilárd fázison kötődik meg. 1 órási reakcióidót követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsővekből mért radioaktivitást 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 (105 ml), pufferes oldat, radioaktivitása <4,5 MBq, 0,1 % NaN₃-ot tartalmaz.
- 8x2 üveg STANDARD (8x2 x1,5 ml), 0,1 % NaN₃ tartósítással. : 0 (S0), 0,06 (S0.06), 0,15 (S0.15), 0,6 (S0.6), 2,5 (S2.5), 15 (S15), 50

(S50) és 100 (S100) µIU/ml hTSH (WHO 2nd IRP 80/558) szérumban.

3. 2x2 üveg ELLENORZO SZÉRUM alacsony (CI), magas (CII); felhasználásra kész. 1,5 ml, 0,1% NaN₃-ot tartalmaz. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 10 doboz BEVONT CSO, 10x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag dobozban

5. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (100 ml), 0,1 % NaN₃ tartósítással, 5 liter desztillált vízzel hígítandó.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsörögzőtő kiképzésben; pipetták (0,1, 0,2 és 2 ml térfogatra, eldobható muanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzáró muanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadék-üveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadék-edénnyel, 2 ml adagolási térfogatra

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a hTSH meghatározás a mintavételt követő 12 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 elokészítése, tárolása

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 5 l desztillált vízhez. A hígított mosó-oldatot 2-8°C-on tároljuk a készlet lejárataig.

Felhasználási módok

A készletet három különböző eljárás vagy opció szerint lehet feldolgozni. Az eljárásokra „A”, „B” és „C” jellel hivatkozunk.

Az „A” és „B” opciók alkalmazása esetén laboratóriumi rázógépre van szükség, a megfelelő 12x75 mm-es tesztcsövek befogadására alkalmas tartófeltételekkel együtt.

A „C” opció esetén 37 °C-os vízfürdőre van szükség. A tesztcsöveknek inkubálás közben bele kell merülniük a vízbe, légkeveréssel termosztát nem felel meg a célra.

Szérum mintákra a három féle eljárás a hibahatáron belül azonos értékeket szolgáltat.

OPCIÓ "A": Az alap eljárás

Mintafelhasználás szempontjából takarékos. Csak 100 µl mintatérfogatra van szükség. Az elérhető analitikai érzékenység 0,011 µIU/ml. A készlet lejárati idopontjához közelítve az érzékenység 0,03 µIU/ml-re változik. A lejárati idő előtt három héttel, a 0,06 µIU/ml-es standard pont a mérésnél elhagyható.

Olyan rázógépet célszerű használni, amely 300 RPM-nél nagyobb rázási sebességgel tud üzemelni. Lassabb, kevésbé intenzív ráztatás mellett a diffúzió kontrollált szilárd fázisú reakció lelassul és alacsonyabb kötéseket kapunk. Szuperszenzitivitása a rendszernek ugyanakkor még 180 RPM értéknél is megmarad.

Jó minőségű, korrekt számítógépes adatkierőkező program alkalmazása esetén az 50 µIU/ml-es standard pont elhagyható. Ha nem

bizonyosodott meg a program alkalmasságát illetően, ne hagyja ki ezt a standard pontot.

OPCIÓ "B": A harmadik generációs eljárás

Az „A” opciónak megfelelően használható ez az eljárás, azzal a különbséggel, hogy a 200 µl megnövelt mintatérfogatnak köszönhetően az analitikai érzékenység sokat javul és eléri a 0,005 µIU/ml-es érzékenységet. A lejárathoz közel az érzékenység 0,015 µIU/ml-re változik. Az 50 µIU/ml-es standard pontra mindenképpen szükség van a standard görbe felső tartománybeli szigmoid alakja miatt.

OPCIÓN "C": A vízfürdő eljárás

Legnagyobb előnye, hogy nincs szükség a végrehajtásnál rázógépre.

Az elérhető analitikai érzékenység 0,020 µIU/ml. A készlet lejárati idopontjához közelítve az érzékenység 0,05 µIU/ml-re változik. A lejárati idő előtt három héttel, a 0,06 µIU/ml-es standard pont a mérésnél elhagyható.

Csak 200 µl mintabemérés mellett használható!

OPCIÓ - A.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1) Hígítsuk ki a mosópuffer koncentrátumot az előírás szerint 5 liter desztillált vízzel.

2) Minden reagenst engedjük szobahőmérsékletre melegedni. (A hidegebb reagensek lelassítják a reakciót és a felmelegedés az inkubációs idő alatt csorol csoré változhat, ami megemelkedett szórást eredményezhet.)

3) Jelöljük meg két-két bevont csövet a standardok, a kontrollok és a minták számára. A total beütésszám mérésére két nem bevont csövet célszerű feliratozni.

4) Homogenizáljunk minden reagenst és a mérendő mintákat mindegyiket vortexeléssel, ügyelve a habzás elkerülésére.

5) Pipetázzunk be 100 µl standardot, kontrollt és mintát a megfelelően jelölt bevont csövek aljába. Használjunk olyan csotartó állványt, amely szorosan tartja, elmozgás-mentesen a csöveket.

6) Pipetázzunk be 200 µl tracet minden csöbe. A total csöveket ezután tegyük félre, mert csak a gamma számlálásnál lesz szükség rájuk.

7) A csotartó állványt rögzítsük a rázógép tálcájára, gumi leszorítóval vagy más módon stabilan. A beállított RPM érték 400 – 600 között adja a legalkalmasabb keverési módot, de a rázógép típusától függően eltérhetünk.

8) Inkubáljunk 1 órán át, ráztatás közben szobahőmérsékleten (20 – 28 °C).

9) Adagoljunk 2 ml hígított mosópuffert minden csöbe. Ezt követően vízszögletű szivattyúval leszívathatjuk a csöben lévő folyadék elegyet vagy egyszerűen dekantálhatjuk a csöveket. Dekantálás: csotartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót. A tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig. Gyozodjunk meg arról, hogy a cső peremén nem maradtak folyadék cseppek.

10) Ismételjük meg a 9-es lépést még kétszer.

11) Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gammaszámlálással legalább 1 perces számlálási idővel.

12) Értékeljük ki a minta koncentrációkat grafikus módon vagy a számláló szoftvere segítségével.

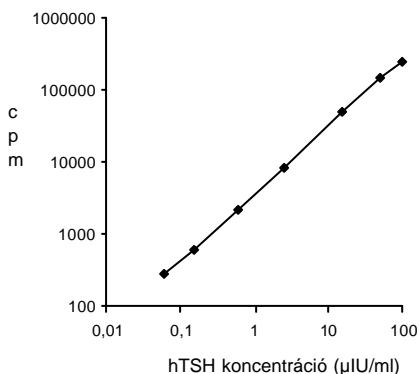
1. Táblázat: Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfigatok mikroliterben)

| | T | S0-S100 | C | M |
|---|-----|---------|------|------|
| Standard | | 100 | | |
| Ell. szérum | | | 100 | |
| Minta | | | | 100 |
| Tracer | 200 | 200 | 200 | 200 |
| Kevertetés, 1 óra szobahőmérsékleten | | | | |
| Folyadék leöntése, szárítás itató papíron | | | | |
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itató papíron | | | | |
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itató papíron | | | | |
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itató papíron | | | | |
| Radoaktivitás mérés (min. 60 sec/cso) | | | | |
| Adatfeldolgozás | | | | |

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

2. Táblázat: Jellemző mérési eredmények

| Csövek | Beütés-szám cpm | Átlag cpm | B/T% |
|--------|------------------|-----------|-------|
| T | 406194 44399 | 405297 | - |
| 0 | 58 67 | 63 | 0,016 |
| 0.06 | 265 297 | 281 | 0,069 |
| 0.15 | 615 587 | 601 | 0,148 |
| 0.6 | 2158 2218 | 2188 | 0,540 |
| 2.5 | 8377 8490 | 8434 | 2,081 |
| 15 | 48394 50214 | 49304 | 12,16 |
| 50 | 146568 147342 | 146955 | 36,26 |
| 100 | 243184 240624 | 241904 | 59,68 |
| CI | 1144 1201 | 1173 | 0.31 |
| CII | 62189 63957 | 63073 | 19.4 |



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

Minőségi jellemzők

Érzékenység

Az analitikai érzékenység meghatározásakor a zero standard beütésszámához hozzáadtuk a szórási kettőszeresét és az így kapott beütésszámhoz visszaolvastuk a görbéről a koncentrációt. A meghatározásnál a standard pontokat 20 párhuzamosban mértük.

Az analitikai érzékenység: 0,011 µIU/ml friss tracerrel mérve.

Funkcionális érzékenység alatt azt a legkisebb koncentrációt értjük, amely már szignifikánsan különbözik a zero koncentrációtól az inter-assay precíziós profil statisztikája alapján (22 % CV).

A funkcionális érzékenység: 0,07 µIU/ml.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül 15 független mérésben értékelve, 7 különböző mintára az alábbi adatokat kaptuk.

3/1. Táblázat

| Intra-assay | |
|----------------|------|
| átlag (µIU/ml) | CV % |
| 0.179 | 3.8 |
| 1.86 | 2.4 |
| 6.25 | 4.2 |

Az inter-assay pontosságot független különálló mérésekkel két párhuzamosan állapítottuk meg. A mérések száma a mintatérfigat függvénye. Három asszisztens vett részt a mérések lebonyolításában. Négy különböző gyártási számú bevont csövet és traceret használtunk, úgy hogy a mérésekben a tracer kora is változzon. Az eredmények az alábbi táblázatban vannak összefoglalva.

3/2. Táblázat

| Inter-assay | | |
|-------------|----------------|------|
| mérés szám | átlag (µIU/ml) | CV % |
| 19 | 0.174 | 9.6 |
| 20 | 1.18 | 3.6 |
| 19 | 20.37 | 7.4 |

Linearitás – hígítási teszt

Egyedi humán szérum mintákat hígítottunk a készlet zero standardjának szérumával 2, 4 és 8-szorosra. A hígítási faktorokat mérlegesen pontosítottuk.

4. Táblázat

| minta. | hígítás | Várt µIU/ml | mért µIU/ml | recovery % |
|--------|---------|-------------|-------------|------------|
| 1 | 1 | | 27.46 | |
| 1 | 2.00 | 13.74 | 13.85 | 100.9 |
| 1 | 4.02 | 6.82 | 7.38 | 108.2 |
| 1 | 8.05 | 3.41 | 3.67 | 107.4 |
| 2 | 1 | | 13.07 | |
| 2 | 2.02 | 6.48 | 6.68 | 103.0 |
| 2 | 4.06 | 3.22 | 3.33 | 103.2 |
| 2 | 8.14 | 1.60 | 1.55 | 96.5 |
| 3 | 1 | | 56.18 | |
| 3 | 2.00 | 28.02 | 27.82 | 99.3 |
| 3 | 4.02 | 13.97 | 13.78 | 98.6 |
| 3 | 8.02 | 7.01 | 7.57 | 108.1 |

Addíciós teszt

Egyedi humán szérummintákba ismert mennyiségű hTSH-t mértünk be. Vizsgáltuk az alap és megemelt koncentráció szinteket, összehasonlítottuk a várt és mért eredményeket. Az adatok az alábbi táblázatban találhatóak.

5. Táblázat

| minta | Alap µIU/ml | Hozzáadott µIU/ml | Várt µIU/ml | mért µIU/ml | Recovery |
|-------|-------------|-------------------|-------------|-------------|----------|
| 1 | 8.28 | 17.18 | 25.46 | 25.00 | 97.3 |
| 2 | 7.50 | 18.60 | 26.09 | 26.65 | 103.0 |

| | | | | | |
|---|------|-------|-------|-------|-------|
| 3 | 8.65 | 18.44 | 27.08 | 26.21 | 95.3 |
| 4 | 9.11 | 16.29 | 25.40 | 24.57 | 94.9 |
| 5 | 5.79 | 17.87 | 23.66 | 23.92 | 101.5 |

OPCIÓ - B.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1) Hígítsuk ki a mosópuffer koncentrátumot az előírás szerint 5 liter desztillált vízzel.

2) Minden reagenst engedjük szobahőmérsékletre melegedni. (A hidegebb reagensek lelassítják a reakciót és a felmelegedés az inkubációs idő alatt csorol csore változhat, ami megemelkedett szórást eredményezhet.)

3) Jelöljük meg két-két bevont csövet a standardok, a kontrollok és a minták számára. A total beütésszám mérésére két nem bevont csövet célszerű feliratozni.

4) Homogenizáljunk minden reagenst és a mérendő mintákat enyhe vortexeléssel, ügyelve a habzás elkerülésére.

5) Pipetázzunk be 200 µl standardot, kontrollt és mintát a megfelelően jelölt bevont csövek aljába. Használjunk olyan csotartó állványt, amely szorosan tartja, elmozgás-mentesen a csöveket.

6) Pipetázzunk be 200 µl traceret minden csobe. A total csöveket ezután tegyük félre, mert csak a gamma számlálásnál lesz szükség rájuk.

7) A csotartó állványt rögzítsük a rázógép tálcájára, gumi lezoritóval vagy más módon stabilan. A beállított RPM érték 400 – 600 között adja a legalkalmasabb keverési módot, de a rázógép típusától függően ettől eltérhetünk.

8) Inkubáljunk 1 órán át, rázatás közben szobahőmérsékleten (20 – 28 °C).

9) Adagoljunk 2 ml hígított mosópuffert minden csobe. Ezt követően vízszög irányúval leszívathatjuk a csoben lévő folyadék elegyet vagy egyszerűen dekantálhatjuk a csöveket. Dekantálás: csotartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót. A tartót változatlan helyzetben (visszafor-dítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.

Győződjünk meg arról, hogy a csobere nem maradtak folyadék-cseppek.

10) Ismételjük meg a 9-es lépést még kétszer.

11) Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gammaszámlálással legalább 1 perces számlálási idővel.

12) Értékeljük ki a minta koncentrációkat grafikus módon vagy a számláló szoftvere segítségével.

6. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfigatok mikroliterben)

| | T | S0-S100 | C | M |
|---|-----|---------|------|------|
| Standard | | 200 | | |
| Ell. szérum | | | 200 | |
| Minta | | | | 200 |
| Tracer | 200 | 200 | 200 | 200 |
| Kevertetés, 1 óra szobahőmérsékleten | | | | |
| Folyadék leöntése, szárítás itató papíron | | | | |
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itató papíron | | | | |
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itató papíron | | | | |

| | | | | |
|--|--|------|------|------|
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron | | | | |
| Radoaktivitás mérés (min. 60 sec/cso) | | | | |
| Adatfeldolgozás | | | | |

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

7. Táblázat Jellemző mérési eredmények

| Csővek | Beütés-szám cpm | Átlag cpm | B/T% |
|-------------|------------------|-----------|-------|
| Total | 405254 402194 | 403724 | - |
| S0 (NSB) | 57 49 | 53 | 0.013 |
| S0.06 | 468 435 | 452 | 0.069 |
| S0.15 | 1095 1035 | 1065 | 0.264 |
| S0.6 | 3936 4151 | 4044 | 1.00 |
| S2.5 | 16214 15233 | 15724 | 3.89 |
| S15 | 86741 88695 | 87718 | 21.73 |
| S50 | 232356 229654 | 231005 | 57.22 |
| S100 (Bmax) | 311395 312518 | 311957 | 77.27 |
| CI | 2256 2099 | 2177 | 0.33 |
| CII | 115658 118590 | 117124 | 19.9 |

| | |
|-------|-----|
| 0.091 | 8.3 |
| 0.900 | 3.1 |
| 18.55 | 2.1 |

Az inter-assay pontosságot független különálló mérésekkel két párhuzamosban állapítottuk meg. A mérések száma a mintatérfigat függvénye. Három asszisztens vett részt a mérések lebonyolításában. Négy különböző gyártási számú bevont csövet és traceret használtunk, úgy hogy a mérésekben a tracer kora is változzon. Az eredmények az alábbi táblázatban vannak összefoglalva.

8/2. Táblázat

| mérésszám | Inter-assay | |
|-----------|----------------|------|
| | átlag (µIU/ml) | CV % |
| 21 | 0.094 | 8.6 |
| 22 | 18.83 | 2.6 |

Linearitás – hígítási teszt

Egyedi humán szérumból mintákat hígítottunk a készlet zéró standardjának szérumával 2, 4 és 8-szorosra. A hígítási faktorokat mérlegesen pontosítottuk.

9. Táblázat

| minta. | hígítás | Várt µIU/ml | mért µIU/ml | recovery % |
|--------|---------|-------------|-------------|------------|
| 1 | 1 | | 27.73 | |
| 1 | 2.00 | 13.87 | 13.71 | 98.8 |
| 1 | 4.02 | 6.89 | 7.35 | 106.6 |
| 1 | 8.05 | 3.45 | 3.39 | 98.4 |
| 2 | 1 | | 13.07 | |
| 2 | 2.02 | 6.48 | 6.69 | 103.3 |
| 2 | 4.06 | 3.22 | 3.31 | 102.8 |
| 2 | 8.14 | 1.60 | 1.54 | 96.1 |
| 3 | 1 | | 57.14 | |
| 3 | 2.00 | 28.49 | 26.71 | 93.7 |
| 3 | 4.02 | 14.21 | 13.81 | 97.2 |
| 3 | 8.02 | 7.13 | 7.24 | 101.6 |

Addíciós teszt

Egyedi humán szérumból mintákba ismert mennyiségű hTSH-t mértünk be. Vizsgáltuk az alap és megemelt koncentráció szinteket, összehasonlítottuk a várt és mért eredményeket. Az adatok az alábbi táblázatban találhatóak.

10. Táblázat

| minta | Alap µIU/ml | Hozzáadott µIU/ml | Várt µIU/ml | mért µIU/ml | Recovery |
|-------|-------------|-------------------|-------------|-------------|----------|
| 1 | 10.08 | 15.71 | 25.78 | 26.24 | 102.9 |
| 2 | 14.63 | 13.33 | 27.96 | 27.38 | 95.6 |
| 3 | 9.88 | 13.49 | 23.37 | 22.76 | 95.5 |
| 4 | 0.769 | 14.27 | 15.03 | 15.04 | 100.0 |
| 5 | 1.50 | 14.63 | 16.13 | 16.01 | 99.2 |

OPCIÓ - C.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

- Hígítsuk ki a mosópuffer koncentrátumot az előírás szerint 5 liter desztillált vízzel.
- Minden reagenst engedjünk szobahőmérsékletre melegedni. (A hidegebb reagensek lelassítják a reakciót és a felmelegedés az inkubációs idő alatt csorol csore változhat, ami megemelkedett szórást eredményezhet.)
- Jelöljük meg két-két bevont csövet a standardok, a kontrollok és a minták számára. A total beütésszám mérésére két nem bevont csövet célszerű feliratozni.
- Homogenizáljunk minden reagenst és a mérendő mintákat enyhe vortexeléssel, ügyelve a habzás elkerülésére.

5) Pipettázzunk be 200 µl standardot, kontrollt és mintát a megfelelően jelölt bevont csövek aljába. Használjunk olyan csotartó állványt, amely szorosan tartja, elmozgás-mentesen a csöveket.

6) Pipettázzunk be 200 µl traceret minden csobe. A total csöveket ezután tegyük félre, mert csak a gamma számlálásnál lesz szükség rájuk.

7) Minden csövet vortexeljünk meg gyengén.

8) Inkubáljunk 1 órán át vízfürdőben (36 – 38 °C).

9) Adagoljunk 2 ml hígított mosópuffert minden csobe. Ezt követően vízszögár szivattyúval leszívathatjuk a csoben lévő folyadék egyet vagy egyszerűen dekantálhatjuk a csöveket. Dekantálás: csotartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót. A tartót változatlan helyzetben (visszafor-dítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig. Gyozodjunk meg arról, hogy a csó peremén nem maradtak folyadék-cseppek.

10) Ismételjünk meg a 9-es lépést még kétszer.

11) Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gammaszámlálóval legalább 1 perces számlálási idővel.

12) Értékeljük ki a minta koncentrációkat grafikus módon vagy a számláló szoftvere segítségével.

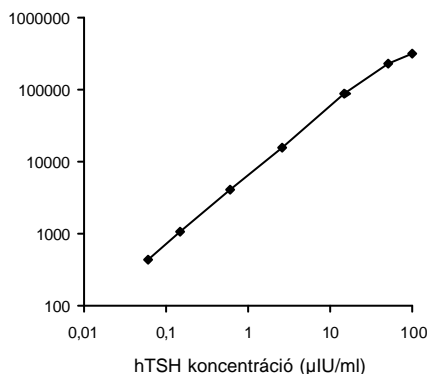
11. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

| | T | S0-S100 | C | M |
|--|-----|---------|------|------|
| Standard | | 200 | | |
| Ell. szérumból | | | 200 | |
| Minta | | | | 200 |
| Tracer | 200 | 200 | 200 | 200 |
| Vortexelés | | | | |
| Inkubáció 1 órán át vízfürdőben 36-38 °C-on. | | | | |
| Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron | | | | |
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron | | | | |
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron | | | | |
| Mosópuffer | | 2000 | 2000 | 2000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron | | | | |
| Radoaktivitás mérés (min. 60 sec/cso) | | | | |
| Adatfeldolgozás | | | | |

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

12. Táblázat Jellemző mérési eredmények

| Csővek | Beütés-szám cpm | Átlag cpm | B/T% |
|----------|------------------|-----------|-------|
| Total | 402020 398564 | 400292 | - |
| S0 (NSB) | 71 60 | 66 | 0.017 |
| S0.06 | 197 168 | 183 | 0.046 |
| S0.15 | 347 388 | 368 | 0.092 |
| S0.6 | 1361 1305 | 1333 | 0.333 |
| S2.5 | 5339 5120 | 5230 | 1.307 |
| S15 | 27317 26655 | 26986 | 6.74 |
| S50 | 70967 68173 | 69570 | 17.38 |
| S100 | 87101 | 86506 | 21.61 |



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

Minőségi jellemzők

Érzékenység

Az analitikai érzékenység meghatározásakor a zéró standard beütésszámához hozzáadtuk a szórásának kétszeresét és az így kapott beütésszámhoz visszaolvastuk a görbéről a koncentrációt. A meghatározásnál a standard pontokat 20 párhuzamosban mértük.

Az analitikai érzékenység : 0,005 µIU/ml friss tracerrel mérve.

Funkcionális érzékenység alatt azt a legkisebb koncentrációt értjük, amely már szignifikánsan különbözik a zéró koncentrációtól az inter-assay precíziós profil statisztikája alapján (22 % CV).

A funkcionális érzékenység: 0,03 µIU/ml.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül 15 független mérésben értékelve, 7 különböző mintára az alábbi adatokat kaptuk.

8/1. Táblázat

| Intra-assay | |
|----------------|------|
| átlag (µIU/ml) | CV % |

| | | | |
|--------|----------------|-------|------|
| (Bmax) | 85910 | | |
| CI | 754 698 | 726 | 0.32 |
| CII | 34536 35398 | 34967 | 19.5 |

| minta. | hígítás | Várt $\mu\text{IU/ml}$ | mért $\mu\text{IU/ml}$ | recovery % |
|--------|---------|------------------------|------------------------|------------|
| 1 | 1 | | 11.31 | |
| 1 | 2.02 | 5.59 | 5.96 | 106.6 |
| 1 | 4.09 | 2.77 | 3.04 | 109.8 |
| 1 | 8.31 | 1.36 | 1.38 | 101.6 |
| 2 | 1 | | 24.57 | |
| 2 | 2.02 | 12.14 | 11.61 | 95.7 |
| 2 | 4.10 | 5.99 | 5.88 | 98.2 |
| 2 | 8.33 | 2.95 | 3.08 | 104.2 |
| 3 | 1 | | 33.46 | |
| 3 | 2.02 | 16.60 | 17.60 | 106.0 |
| 3 | 4.08 | 8.20 | 9.44 | 115.2 |
| 3 | 8.21 | 4.07 | 4.90 | 120.1 |

Várható referens tartomány

0,27 $\mu\text{IU/ml}$ – 3,75 $\mu\text{IU/ml}$.

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

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

$$B/T (\%) = \frac{S_{0,06-100}/Mx/(\text{cpm}) - S_0(\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

A korszerű mérőeszközök lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is.

Megjegyzések, tanácsok

1) A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közösleges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet!

2) Kevertetésre csak olyan kémcsövet használhat, amelyben a csövek rögzítve vannak.

3) A mosópuffer adagolása. A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezeto csövel felszerelt diszpenzerből adagolható, amelyhez legalább 1 l-es folyadék-edény csatlakozik. Diszpenzer hiányában kellemes nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismételő pipetta használható.

Egyéb tudnivalók

A különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó TSH készletének komponenseivel.

Radioaktivitás

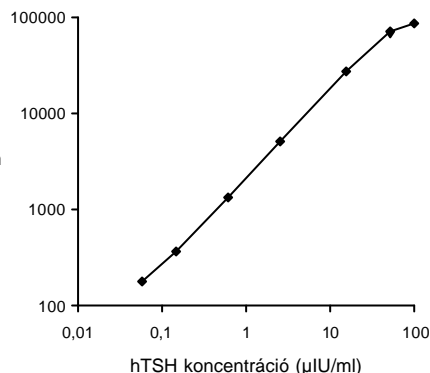
A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során ill. a védőeszközök esetleges sérülése esetén a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

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 komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 235 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.



3. ábra

Tipikus standard görbe,
(Minta meghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Érzékenység

Az analitikai érzékenység meghatározásakor a zero standard beütésszámához hozzáadtuk a szórásának kétszeresét és az így kapott beütésszámhoz visszaolvastuk a görbéről a koncentrációt. A meghatározásnál a standard pontokat 20 párhuzamosban mértük.

Az analitikai érzékenység : 0,005 $\mu\text{IU/ml}$ friss tracerrel mérve.

Funkcionális érzékenység alatt azt a legkisebb koncentrációt értjük, amely már szignifikánsan különbözik a zero koncentrációtól az inter-assay precíziós profil statisztikája alapján (22 % CV). A funkcionális érzékenység: 0,03 $\mu\text{IU/ml}$.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül 15 független mérésben értékelve, 7 különböző mintára az alábbi adatokat kaptuk.

13/1. Táblázat

| Intra-assay | |
|-----------------------------|------|
| átlag ($\mu\text{IU/ml}$) | CV % |
| 0.170 | 7.3 |
| 1.81 | 4.4 |
| 6.27 | 3.2 |

Az inter-assay pontosságot független különálló mérésekkel két párhuzamosan állapítottuk meg. A mérések száma a mintaterület függvénye. Három asszisztens vett részt a mérések lebonyolításában. Négy különböző gyártási számú bevont csövet és traceret használtunk, úgy hogy a mérésekben a tracer kora is változzon. Az eredmények az alábbi táblázat-ban vannak összefoglalva.

13/2. Táblázat

| Inter-assay | | |
|-------------|-----------------------------|------|
| mérésszám | átlag ($\mu\text{IU/ml}$) | CV % |
| 18 | 0.254 | 7.4 |
| 20 | 1.72 | 3.8 |
| 19 | 19.60 | 5.9 |

Linearitás – hígítási teszt

Egyedi humán szérum mintákat hígítottunk a készlet zero standardjának szérumával 2, 4 és 8-szorosra. A hígítási faktorokat mérlegesen pontosítottuk.

14. Táblázat

| | | | |
|------------|--|----------------|--------------------|
| | Lejáratási 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-on tárolandó |
| | Gyártó | | |
| REF | Katalógus szám | | |
| | Radioaktív anyag | | |



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