

Anti-hTG [¹²⁵I] RIA készlet (REF: RK-8CT)

Az Anti-hTG [¹²⁵I] RIA készlet a humán thyreoglobulin elleni auto-antitestek direkt mennyiségi meghatározására szolgál humán szérumban. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén, 50 µl térfogatból 42 szérumból anti-hTG koncentrációja határozható meg, a 30-3000 IU/ml mérési tartományban.

Bevezetés

A humán thyreoglobulin (hTG) a pajzsmirigy follikuláris sejtjeiben található, kb. 650 ezres molekulatömegű glikoprotein. A jódfelvétel és jódbeépülés mátrixálul szolgál, a pajzsmirigy sejtek kolloid csepp formájában felveszik a follikulusból, majd a lizoszómákban lehasítják róla a megkötött pajzsmirigy-hormonokat. A szabaddá vált hormonok egy része szekretálódik a keringésbe.

A pajzsmirigy-betegségek leggyakoribb kóroki tényezői különböző auto-immun mechanizmusok, melyek közül az anti-thyreoglobulin, az anti-TPO, és az anti-TSH-receptor auto-antitestek meghatározása kiemelkedő diagnosztikai jelentőséggel bír.

Anti-hTG auto-antitestek kimutathatók minden auto-immun eredetű pajzsmirigy-betegségben, így Hashimoto thyreoiditisben, és Graves kórban, de esetenként egészséges egyénekben is jelen vannak. Legmagasabb koncentrációban Hashimoto thyreoiditisben figyelhetők meg Pajzsmirigy daganatokban ugyancsak emelkedett a szintjük, és ennek változása terápia-követésre is alkalmas.

A hTG elleni auto-antitestek specifikitása komplex; az antigénen található 11 féle epitóppal szemben változó reaktivitás alakulhat ki. Az anti-hTG mérését általában más auto-antitest (anti-TPO) mérésével együtt végzik.

A mérés elve

A mérokészlet a szilárd fázisú radioimmunoassay (RIA) működési elvét alkalmazza. A mintában lévő anti-TG és a mintához adott biotinált anti-TG vetélkedik a rendszerben állandó mennyiségben jelen lévő ¹²⁵I-dal jelzett TG kötohelyeiért. A sztreptavidinnel bevont cső az inkubálás alatt megköti a biotinált antitestet. A vetélkedés eredményeképp a cső felületén kötött radioaktivitás fordítottan arányos a minta anti-TG koncentrációjával.

A standardok relatív kötésiértékei és koncentrációi ismeretében szerkesztett mérő-(standard)-görbéről, a minták relatív kötésiértékei alapján, azok anti-TG koncentrációja meghatározható.

A készlet tartalma

1.1 flakon ¹²⁵I-TRACER, felhasználásra kész. Radioaktivitása <260kBq.
11ml pufferes oldat, 0,1% nátrium-azidot és piros színezéket tartalmaz.

2. 1 flakon ANTISZÉRUM, felhasználásra kész.

11 ml, pufferes oldat, 0,1 % nátrium-azidot és kék színezéket tartalmaz.

3. 6 üveg STANDARD(S0-S5), felhasználásra kész.

1x1ml (S0), illetve 5x0,4 ml (S1-S5), szérumból, 0,1 % nátrium-azid tartósítóval.

Konc.: 0; 30; 100; 300; 1000; 3000 IU/ml.

4. 2 üveg ELLENORZO SZÉRUM, liofilizált, humán szérumból, 0,1 % nátrium-azid tartósítóval.

Rekonstituálendő 0,5 ml desztillált vízzel. Várható értékeiket a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

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

6. 1 flakon MOSÓPUFFER

KONCENTRÁTUM, 20 ml, 0,2 % nátrium-azid tartósítóval.

200 ml desztillált vízzel hígítandó

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsortartó, rugalmas kémcsörögzőtő kiképzésben, 50 µl-es precíziós mikropipetta, 100 µl-es és 2 ml-es ismételő pipetta, örvénykevero (vortex), orbitális kevero, papírvatta, vagy itató papír, gamma-számláló.

Ajánlott: folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadék-edénnyel, 2 ml adagolási térfogatra (ekkor a 2 ml-es ismételő pipettára nincs szükség)

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérumbmintákat a más, ugyancsak szérumból igényelt laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben a meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8 °C-on, későbbi felhasználás esetén -18 °C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumból nem használunk mérésre. Amennyiben a minta-koncentráció várhatóan >3000 IU/ml, hígításhoz az S0 standard használható fel.

A reagensek elokészítése, tárolása

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

Adjunk a liofilizált ellenorzo szérumbhoz 0,5 ml desztillált vizet, és homogenizáljuk örvénykeverővel. Ügyeljünk a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot legalább 20 percig még ne használjuk fel.

Az ellenorzo szérumb oldatot 2-8 °C-on eltartható a készlet lejárati idejéig, későbbi felhasználás esetén -18 °C-on mélyhűtve tároljuk.

A mosópuffer koncentrátumot öntsük 200 ml desztillált vízhez. A kész oldat 28 °C-on a készlet lejárati idejéig tárolható.

A minták hígítása. A legmagasabb standard értéknél magasabb koncentrációjú mintákat hígítás után ismételt mérjük meg. Hígításhoz a nulla standard (S0) használható fel. Ajánlott hígítás: 180 µl S0, 20 µl minta 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

Folyamatábra

- Jelöljük meg két –két csövet: összes beütésszám (T), standard (S0-S5), ellenorzo szérumbok (CI,CII); vizsgálandó minták (M).
- Mérjük 50 µl STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMot, és SZÉRUMBINTÁT a megfelelő csövekbe.
- Mérjük minden csöbe 100 µl ANTISZÉRUM oldatot, kivéve a T jelu csöveket.
- Mérjük minden csöbe 100 µl TRACER oldatot.
- Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsortartó állványba, a T jelu csövek kivételével. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsöbén mozgásban legyen. Kevertessük 3 órán át szobahőmérsékleten.
- A csotartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszaforítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
- Adjunk minden csövhöz 2 ml mosópuffert, majd öntsük le a felülűszót az 6. pontnak megfelelően.
- Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

Az eredmények számítása

Számítsuk ki a B₀/T-t az alábbi egyenlettel:

$$B_0/T\% = S_0 \text{ (cpm)} / T \text{ (cpm)} \times 100$$

Számítsuk ki a standardok, az ellenorzo szérumbok és a minták kötési százalékat

$$B/B_0\% = S_1-S_5, CI, CII, M \text{ (cpm)} / S_0 \text{ (cpm)} \times 100$$

A nem specifikus kötés (NSB) alacsony (NSB/T kisebb mint 1 %) , ezért meghatározása szükségtelen.

Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított B/B₀ % értékeket a standard koncentrációjának függvényében. Az így kapott standard görbéről olvassuk le a vizsgált minta B/B₀ % értékeihez tartozó koncentrációt.

A korszerű mérokészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez a négyzetes logit-log illesztő program használatát javasoljuk.

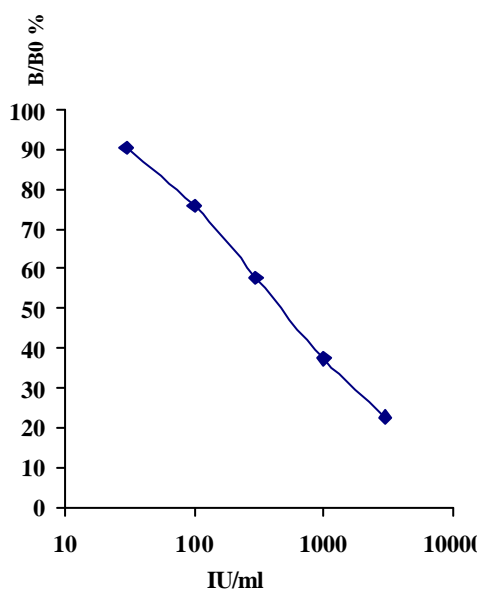
Folyamatábra, pipettázási kalauz
(térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S5	C	M
Standard		50		
Ell. szérum			50	
Minta				50
Antiszérum		100	100	100
Tracer	100	100	100	100
Kevertetés, 3 órán át szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron				
Mosópuffer	2000	2000	2000	
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron				
Radoaktivitás mérés (min. 60 sec/cso)				
Adatfeldolgozás				

Jellemző mérési eredmények

Csövek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/B0 %	Anti-TG IU/ml
T	83464 84109	83787		
S0	29671 30460	30065	100	
S1	27451 26985	27218	90,5	
S2	22552 23079	22816	75,8	
S3	16688 18096	17392	57,8	
S4	11428 11110	11269	37,4	
S5	6930 6759	6845	22,7	
CI	23080 23842	23461		90,3
CII	13839 14866	14352		522

Jellemző standard görbe



Minőségi jellemzők

Kalibráció

A készlet munka-standardjai az NIBSC 65/93 nemzetközi referencia-preparátumra kalibráltak.

Analitikai érzékenység

Jelen készlet analitikai érzékenysége (egy assayban 10 párhuzamos mérésből meghatározva) **13 IU/ml**. Értéke egyenlo a ($B_0 - 2*SD$) kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Funkcionális érzékenység

8 független mérésben meghatároztuk a 20% inter-assay szóráshoz tartozó koncentrációt. A kapott érték **30 IU/ml**.

Pontosság és reprodukálhatóság

Az intra-assay pontosságot 17 párhuzamossal egy sorozaton belül határoztuk meg. Az inter-assay pontosságot 8 független mérésből számoltuk, minden mérést 2 párhuzamossal végeztünk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (IU/ml)	CV %	átlag (IU/ml)	CV %
130	8,7	103	14,2
302	7,7	252	9,2
499	7,0	459	5,7
1090	6,9	897	9,6
		1788	9,8

Specifitás

0 koncentrációjú standardhoz 3 különböző koncentrációban humán thyroglobulint adtunk, és mértük a látszólagos anti-hTG koncentrációt. Az eredmények az alábbi táblázatban láthatók.

Hozzáadott hTG konc.(ng/ml)	Mért anti-hTG konc.(IU/ml)
200	Nem detektálható
1020	29,8
2040	96,4

Várható referens tartomány

239 női és 236 férfi vérérdő szérumát vizsgáltuk. A TSH eredmények alapján kórosnak tekintett minták (n=10) anti-TG koncentrációjának átlaga 395 ± 591 IU/ml volt. A TSH eredmények alapján egészségesnek vélhető vérérdők anti-TG adatait az alábbi táblázatban foglaltuk össze.

Kor (év)						
	n	Átlag	SD	Min	Max	95 % határ*
Férfi	233	38,2	10,5	20	65	-
No	232	34,4	11,3	18	64	-
Férfi+no	465	36,3	11,0	18	65	-
Anti-TG (IU/ml)						
Férfi	233	13	50,3	0	383	50
No	232	23,2	56,5	0	433	126
Férfi+no	465	18,1	52,7	0	433	101

* a minták 95 %-ának koncentrációja az adott koncentráció alatt van.

Méréseink alapján – teljes populációra nézve – kórosnak tekinthetjük a **100 IU/ml** koncentráció feletti mintákat.

Ezen érték csak tájékoztató adatnak tekintendo, és nem helyettesítheti a készletet

felhasználó laboratóriumok által meghatározott saját normál/kóros értékeket.

Egyéb tudnivalók

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

Biztonsági óvórendszabályok

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 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 65 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.

-  Lejáratási idő  Gyártási szám
-  2-8°C-on tárolandó  Kontrol
-  Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok  Standard
-  Biológiai veszély  Bevont cső
-  Lásd használati utasítás  Tracer
-  In vitro diagnosztikai eszköz  Mosópuffer
-  Gyártó  Antiszérum
-  Katalógus szám
-  Radioaktív anyag



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



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