

TurboTSH [I-125] IRMA készlet

(REF: RK-1CT1)

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

Bevezetés

A hTSH (Thyreoidea Stimulating Hormone) vagy más néven tireotrop hormon kb. 28000-es mólsúlyú glikoprotein típusú hormon, amelyet az agyalapi mirigy sejtjei (az ún. tirotropok) 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 koncentrációinak bármilyen megváltozása a TSH plazmaszintjének ellen-tétes irányú változásával jár. A TSH koncentráció meghatározása központi szerepet játszik a népbetegségek számító pajzsmirigy-rendellenességek laboratóriumi diagnosztikájában.

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. A 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 koncentrációját kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

A készlet tartalma

- 1 flakon ¹²⁵I-TRACER (12 ml), pufferes oldat, radioaktivitása <980 kBq, 0,1 % NaN₃-ot tartalmaz.
- 8 üveg STANDARD (8x1 ml), 0,1 % NaN₃ tartóssítóval. : 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) μ IU/ml hTSH (WHO 3rd IRP 81/565) lőszérumban.
- 2x1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM alacsony (CI), magas (CII); felhasználásra kész. 1,0 ml,

0,1% NaN₃-ot tartalmaz. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrógzító kiképzésben; pipetták (0,1 és 2 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); desztillált víz; rázóógép; kémcsőzáró műanyag 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 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 reagens előkészítése, tárolása

A reagenset felbontás után 2-8°C-on tároljuk. Ezen a hőmérsékleten tárolva a reagens a készlet lejáratáig megőrzi stabilitását. Az aktuális lejárati idő a doboz címkén illetve a minőségi bizonylaton található.

FIGYELEM!

A mérés megkezdése előtt a reagens oldatokat illetve a mérendő mintákat engedjük szobahőmérsékletre melegedni és alaposan homogenizáljuk. Kerüljük el a habzást.

A meghatározás menete

FIGYELEM!

Ha a készlet lejáratáig kevesebb mint 3 hét van, vagy a készletet RIA automatán dolgozzuk fel akkor a 0,06 μ IU/ml-es standard kihagyható.

1) Minden reagenst engedjük szobahőmérsékletre melegedni. (A hidegebb reagens lelassítja a reakciót és a felmelegedés az inkubációs idő alatt csőről csőre változhat, ami megemelkedett szórás eredményezhet.)

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

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

4) Pipetázzunk be 100 μ l standardot, kontrollt és mintát a megfelelően jelölt bevont csövek aljába. Használjunk olyan csőtartó állványt, amely szorosan tartja, elmozgás-mentesen a csöveket.

5) Pipetázzunk be 100 μ l tracert minden csőbe. A total csöveket ezután tegyük fél-

re, mert csak a gamma számlálásnál lesz szükség rájuk.

6) A csőtartó állványt rögzítsük a rázóógép tálcájára, gumi leszorítóval vagy más módon stabilan. (A beállított RPM érték 600-800 RPM között adja a legalkalmasabb keverési módot, de a rázóógép típusától függően ettől eltérhetünk.)

7) Inkubáljunk 30 percig, rázatás közben szobahőmérsékleten (20 - 28 °C).

8) Adagoljunk 2 ml desztillált vizet minden csőbe. Ezt követően vízszög szivattyúval leszívathatjuk a csőben levő folyadék elegyet vagy egyszerűen dekantálhatjuk a csöveket. Dekantálás: csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót. A tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig. Győződjünk meg arról, hogy a cső peremén nem maradtak folyadék cseppek.

9) Ismételjük meg a 8-as lépést még kétszer.

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

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

1. Táblázat: Folyamatábra, pipetázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S100	C	M
Standard		100		
Ell. szérum			100	
Minta				100
Tracer	100	100	100	100
Kevertés, 30 perc szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
D.víz		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
D.víz		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
D.víz		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radoaktivitás 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 S0 beütésszámával) korrigált értékeket osztjuk a total aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

$$S_{0,06-100/Mx}/(cpm) - S_0(cpm)$$

$$B/T (\%) = \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100$$

T (cpm)

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

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

2. Táblázat: Jellemző mérési eredmények

Csővek	Átlag cpm	B/T%
Total	375 646	
S0 (NSB)	160	
S0.06	275	0.03
S0.15	462	0.08
S0.6	1 233	0.29
S2.5	4 899	1.26
S15	26 309	6.96
S50	79 850	21.21
S100 (Bmax)	150 083	39.91
CI	1 991	0.49
CII	31 386	8.31

Minta azonosító	Átlag $\mu\text{IU/mL}$	Inter-assay CV%
Pool 1	0.076	19.3
Pool 2	0.152	11.5
Pool 3	2.149	3.0
Pool 4	2.249	3.5
Pool 5	7.531	2.6
Pool 6	18.939	2.7
Pool 7	38.489	2.0

Linearitás – hígítási teszt

Egyedi humán szérumból mintákat hígítottunk a készlet zéró standardjának szérumával 2, 4, 8 és 16-szorosra. A hígítási faktorokat mérlegesen pontosítottuk. A 4 szérumminta nulla standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:
 $Y = 1.0361x - 0.7669 \quad R^2 = 0.9994 \quad n = 16$

Addíciós teszt

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

Az átlag visszanyerés 102,28% volt (99% – 108%).

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 8000 $\mu\text{IU/mL}$ alatt nem jelentkezik.

Várható referens tartomány

0,30 $\mu\text{IU/ml}$ – 4,00 $\mu\text{IU/ml}$.

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

Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestek keresztreakciója detektálási határ alatti LH, FSH és hCG esetén (normál, fiziológiai koncentrációk esetén).

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 írni 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. Egyetlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis (fals alacsony!) mérési eredményekhez vezethet!

3) **A desztillált víz adagolása.** A desztillált víz legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerről adagolható, amelyhez legalább 1 literes folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölött végighaladva a desztillált víz adagolása gyors és hibamentes. Diszpenzer

hiányában kellően nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlő pipetta használható.

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.

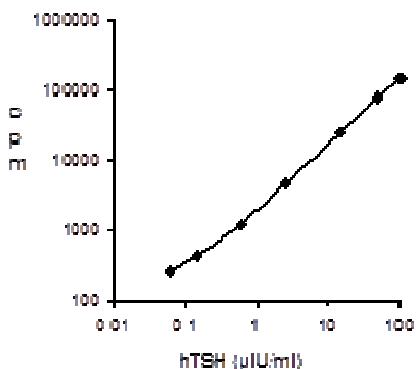
Fertőzésveszély

A készletben lévő **humán szérumból** tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumból HIV-Ab, HBsAg, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumból 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 komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 22 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.



1. 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 zéró standard pontot 31 párhuzamosban mértük.

Az analitikai érzékenység : 0,009 $\mu\text{IU/ml}$

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: 0,07 $\mu\text{IU/ml}$

Pontosság

Az **intra-assay** pontosságot 20 párhuzamossal egy mérési sorozaton belül 5 különböző mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Minta azonosító	Átlag $\mu\text{IU/mL}$	Intra-assay CV%
Pool 1	1,91	1,85
Pool 2	2,37	2,41
Pool 3	8,39	1,19
Pool 4	19,84	1,68
Pool 5	45,86	1,21

Az **inter-assay** pontosságot 2 párhuzamossal, 20 független mérésben határoztuk meg, 7 különféle szérumból segítségével. Az eredmények az alábbi táblázatban vannak összefoglalva.

	Lejárató idő	CONTROL	Kontrol
	Gyártási szám	CAL	Standard
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CT	Bevont cső
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás	REF	Katalógus szám
	In vitro diagnosztikai eszköz		2-8°C-on tárolandó
	Gyártó		Radioaktív anyag



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