

## Anti-hTPO [I-125] RIA készlet (REF: RK-36CT)

Az anti-TPO [<sup>125</sup>I] RIA készlet a thyreoidea-peroxidáz (TPO) enzim elleni auto-antitestek direkt mennyiségi meghatározására szolgál humán szérumban. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén, 10 µl térfogatból 42 szérumból anti-TPO koncentrációja határozható meg, a 0-1900 IU/ml mérési tartományban.

### Bevezetés

A TPO hem proszterikus csoportot tartalmazó, kb. 105 kDa molekulatömegű glikoprotein enzim. A pajzsmirigy-hormonok többlépcsős bioszintézisének kulcs-enzyme, amely az anorganikus jódnak szerves molekulába való beépüléséhez szükséges oxidatív reakciót katalizálja.

A pajzsmirigy-betegségek leggyakoribb kóroki tényezői különböző auto-immun mechanizmusok, ezért az ezekkel kapcsolatos antitestek (anti-thyreoglobulin, az anti-TPO, és az anti-TSH-receptor) meghatározása kiemelkedő diagnosztikai jelentőségű.

Anti-TPO auto-antitestek kimutathatók minden auto-immun eredetű pajzsmirigy-betegségben, sőt, néha még egészséges egyénekben is. Koncentrációjuk igen magas Hashimoto tireoiditiszben, idiopathiás mixodémában, és időskori krónikus atrófiás tireoiditiszben.

TPO auto-antitestek kimutathatók a kezeletlen Graves kóros betegek jelentős hányadában is. Az emelkedett anti-TPO szint fontos korai indikátora a későbbi tireoiditiszeknek, így az első trimeszteri terhességben a posztpartum tireoiditisznek, vagy a familiáris auto-immun tireoiditisznek, és kiegészítő módszerként számításba jöhet az egyéb auto-immun megbetegedések (diabetes mellitus, Addison-kór, anaemia perniciosa) diagnosztikájában is. Anti-TPO antitestek előfordulhatnak a pajzsmirigy daganatos megbetegedéseiben, így pajzsmirigy adenomában, és pajzsmirigy karcinómában is.

### A mérés elve

A mérőkészlet a szilárd fázisú radioimmunoassay (RIA) működési elvét alkalmazza. A mintában lévő anti-TPO és a tesztcső falához kötött anti-TPO vetélkedik a rendszerben állandó mennyiségben jelen lévő <sup>125</sup>I-dal jelzett TPO kötőhelyeiért. A vetélkedés eredményeképp a cső felületén kötött radioaktivitás fordítottan arányos a minta anti-TPO koncentrációjával.

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

### A készlet tartalma

1. 2 flakon <sup>125</sup>I-TRACER, 16 ml felhasználásra kész. Radioaktivitásuk <130kBq flakononként, 0,1 % nátrium-azidot és piros színezéket tartalmaz.

2. 6 üveg STANDARD, felhasználásra kész. 6 x 0,75 ml (S0-S5), humán anti-TPO elleni antitestek humán plazmában, 0,1 % nátrium-azid tartósítással.

Konc.: 0, 15, 50, 170, 600, 1900 IU/ml

3. 2 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM, felhasználásra kész, humán szérumból, 0,1 % nátrium-azid tartósítással.

Várható értékeiket a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

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

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

### A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörögzőtő kiképzésben, 10 µl-es precíziós mikropipetta, 300 µl-es és 1 ml-es ismétlő pipetta, örvénykeverő (vortex), orbitális keverő, papírvatta, vagy itató papír, gamma-számláló, desztillált víz.

Ajánlott: folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadék-edénnyel, 1 ml adagolási térfogatra (ekkor az 1 ml-es ismétlő pipettára nincs szükség).

### A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérummintákat a más, ugyancsak szérumból igénylő laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben a meghatározás a mintavétel 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 >1900 IU/ml, hígításhoz az S0 standard használható fel.

### A reagensek előkészítése, 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.

### 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

1. Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S0-S5), ellenőrző szérumból (CI, CII); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 10 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMot, és SZÉRUMMINTÁT a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 300 µl TRACER oldatot.

4. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba, a T jelű csövek kivételével. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen.
5. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten. (min. 600 rpm ajánlott)
6. Adjunk minden csőhöz 1 ml desztillált vizet.
7. Majd a csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, azután a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percre.
8. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

### 1. Táblázat: Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S5	C	M
Standard		10		
Ell. szérumból			10	
Minta				10
Tracer	300	300	300	300
Kevertetés, 2 órán át szobahőmérsékleten				
Desztillált víz	1000	1000	1000	1000
Folyadék leöntése, szárítás itató papíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

### Az eredmények számítása

Számítsuk ki a B<sub>0</sub>/T-t az alábbi egyenlettel:

$$B_0/T \% = 100 * S_0 / T$$

Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérumból és a minták kötési százalékát

$$B/B_0 \% = 100 * (S_{1-5} ; CI-II ; P_x) / S_0$$

Egy jellegzetes mérési adatsort foglalj össze a 2. táblázat.

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

Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított B/B<sub>0</sub> % értékeket a standard koncentrációjának függvényében. Az így kapott standard görbéről olvassuk le a vizsgált minta B/B<sub>0</sub> % értékeihez tartozó koncentrációt. A görbén kívül eső értékeket ne próbáljuk extrapolációval meghatározni.

Egy jellemző standardgörbét mutat az 1. ábra. (Tipikus standardgörbe)

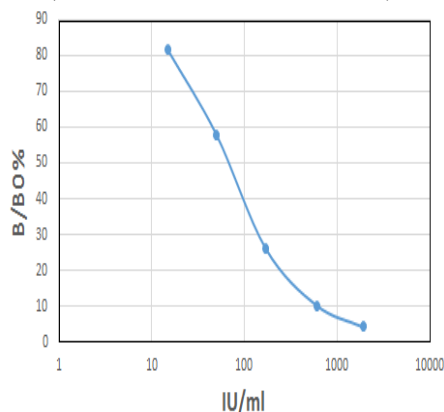
A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez a négyzetes logit-log illesztő program használatát javasoljuk.

## 2. Táblázat: Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/B0 %
T	82 863		
S0	42 890	100	
S1	34 946	81.5	
S2	24 827	57.9	
S3	11 200	26.1	
S4	4 404	10.3	
S5	1 823	4.3	
CI	21 880		63.7
CII	12 125		171.4

### 1. Ábra: Tipikus standard görbe

(mintamérésre nem használható)



## Minőségi jellemzők

### Analitikai érzékenység

Jelen készlet analitikai érzékenysége: 2,4 IU/ml, a 0-standard egy assayben 20 párhuzamos mérésből meghatározva. Értéke egyenlő a kötés átlagos cpm értéke – kétszeres szórás ( $B_0 - 2*SD$ ) kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

### Kalibráció

A készlet munka-standardjai az NIBSC 66/387 nemzetközi referencia-preparátumra kalibráltak.

### Pontosság és reprodukálhatóság

Az intra-assay pontosság meghatározásához 6 humán szérumból mértünk meg 20 párhuzamosan egy sorozaton belül.

Minta	Átlag IU/mL	Intra-assay CV%
M 1	743	5.6
M 2	415	8.2
M 3	76	9.3
M 4	34	5.9
M 5	16	11.7
M 6	12	10.1

Az inter-assay pontosságot 6 humán szérumból mértünk meg 20 független mérésből számoltuk. A méréseket 5 különböző operátor végezte eltérő összetételű készletekkel

Minta	Átlag IU/mL	Inter-assay CV%
M 1	900	9.1
M 2	445	6.5
M 3	79	6.2
M 4	36	8.3
M 5	16	10.9
M 6	12	15.2

## Linearitás (hígítási teszt)

Két humán plazma mintát hígítottunk. A hígított mintákat a készlet protokoll szerint immunoassay-ben megmértük. a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$Y = 0,9237 x + 10,677 \quad R = 0,9981 \quad n = 12$$

## Várható referens tartomány

290 véradó mintájának anti-TPO koncentrációját vizsgáltuk.

Méréseink alapján – teljes populációra nézve – kórosnak tekinthetjük a 25 IU/ml koncentráció feletti mintákat.

Ezen érték csak tájékoztató adatnak tekintendő, és nem helyettesítheti a készletet felhasználó laboratóriumok által meghatározott saját normál/kóros értékeket.

## Megjegyzések, tanácsok

- Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közöségek 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.
- Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsőtartó használható, amelyben a csövek rögzítve vannak.

## 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 szérumból tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumból HIV-Ab (anti-HIV 1/2), HBsAg, Hepatitis C Ab és Treponema Ab 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.

### Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 38 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 reagenset nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

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



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

Technikai e-mail: [immuno@izotop.hu](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