

IAA [I-125] RIA készlet

Katalógusszámok:

RK-50P50, kit 50 meghatározáshoz
RK-50P100, kit 100 meghatározáshoz

Az IAA [I-125] RIA készlet az Inzulin elleni auto-antitestek direkt mennyiségi meghatározására szolgál humán szérumban. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 43 szérumszám- minta IAA koncentrációja határozható meg, a 0-50 U/ml mérési tartományban.

Bevezetés

Az 1-es típusú cukorbetegség a hasnyálmirigy inzulint termelő béta sejteinek krónikus, autoimmun eredetű pusztulásának eredménye. A preklinikai fázisban a béta sejt antigének elleni autoantitestek már megjelennek, ami a klinikai tünetek jelentkezése előtt már évekkel korábban mérhető. A vérkeringési rendszerben lévő béta sejt elleni autoantitestek fontos markerei az 1-es típusú cukorbetegségnek. Ezek az autoantitestek Inzulin, glutaminsav-dekarboxiláz enzim (GAD65) valamint protein tirozin-foszfátáz (IA2) antigének ellen termelődnek.

Az IAA előfordulása jelentősen gyakoribb azoknál a személyeknél, akiknél már gyermekkorban kialakulóban volt a betegség, és gyakran ezek az első autoantitestek, amik a betegség megjelenése előtt mérhetőek.

Az inzulin elleni autoantitest (IAA) a glutaminsav-dekarboxiláz enzim (GAD65) elleni és a protein tirozin-foszfátáz (IA2) elleni autoantitestek meghatározásával együtt alkalmas az 1-es típusú diabétesz jövőbeni megjelenésének prognosztizálására.

A betegség kifejlődésének rizikója a detektált autoantitestek számával nő.

A mérés elve

A mérőkészlet egy direkt assay, amely a radioligand assay működési elvét alkalmazza. Egy éjszakai inkubáció alatt a tracerben lévő I25-I-Inzulin kötődik a standardokban és mintákban lévő Inzulin elleni autoantitestekhez (IAA). Protein A hozzáadásával (amely az autoantitestek Fc régiójához kötődik) a I-125 jelzett antigén-antitest komplex kicsapódik. Centrifugálás után a csapadékban mérhető a radioaktivitás.

A mintában lévő IAA koncentráció egyenesen arányos a teszt csőben mérhető radioaktivitással.

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

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, teszt cső (kónikus végű), precíziós mikropipetta eldobható hegyekkel (20, 25, 50 és 1000 µl-es), kémcsőzáró műanyag fólia, örvénykeverő (vortex), centrifuga, papírvatta, vagy itató papír, gamma-számláló.

Ajánlott: ismétlő pipetta

A készlet tartalma

Komponens	RK-50P50	RK-50P100
TRACER , ¹²⁵ I-Inzulin, felhasználásra kész, 1,5 ml/üveg, <34 kBq/üveg, narancsszínű.	1 üveg	2 üveg
PROTEIN-A , liofilizált, kék.	1 üveg	2 üveg
NEGATÍV SZÉRUM , felhasználásra kész, 0,5 ml/üveg, humán szérum. Konc.: 0,04 U/ml.	1 üveg	1 üveg
STANDARD , felhasználásra kész, 0,5 ml/üveg humán szérumban. Konc.: 0,4; 1; 10; 50 U/ml.	4 üveg	4 üveg
ELLENŐRZŐ SZÉRUM , felhasználásra kész, 0,5 ml/üveg humán szérumban.	2 üveg	2 üveg
REKONSTITUCIÓS PUFFER , felhasználásra kész.	1 üveg 6 ml	1 üveg 6 ml
PRECIPITÁLÓ PUFFER , felhasználásra kész.	1 üveg 55 ml	1 üveg 105 ml

A készlet tartalmaz még: 1 db Minőségellenőrzési bizonylat, 1 db Használati utasítást.

Az ellenőrző szérumok várható értékei a minőségi bizonylaton találhatóak.

Minden komponens tartalmaz 0,1% nátrium azid tartósítószeret.

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérummintákat a más, ugyancsak szérumot igénylő laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben a meghatározás a mintavétel követő 48 órán 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

Protein A: 2,6 ml rekonstitúciós pufferrel oldjuk vissza az egyes üvegek tartalmát, amit közvetlenül felhasználás előtt alaposan homogenizálunk.

A készlet komponensei az első felnyitást illetve a visszaoldást 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 (kivéve a precipitációs puffert) majd alaposan homogenizáljuk őket, de kerüljük el a habzást.

A meghatározás menete*Folyamatábra*

- Jelöljük meg két –két csövet: összes beütésszám (T), negatív szérum (NS), standard (S1-S4), ellenőrző szérumok (CI, CII); vizsgálandó minták (Mx).
- Mérjük **20 µl** STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMot, és SZÉRUMMINTÁT a megfelelő csövekbe.
- Mérjük minden csőbe **25 µl** TRACER oldatot.
- Vortexelés után fedjük le a csöveket műanyag fóliával és inkubáljuk egy éjszakán keresztül (18-24 óra) szoba hőmérsékleten.
- Mérjük minden csőbe **50 µl** Protein A-t, kivéve a totál csöveket. (A Protein A-t alaposan vortexelni közvetlenül a felhasználás előtt.)
- Vortexelés után inkubáljuk a csöveket **1 órán** keresztül **4°C**-on.
- Adjunk minden csőhöz **1 ml hideg** (4°C) precipitáló puffert.
- Centrifugáljuk a csöveket 2000 x g-n **30 percig** 4°C-on
- Majd szívjuk le a folyadékot vagy a csőtartót fejjel lefelé fordítva (kivéve T jelű csövek), egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót, azután a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 5 percig.
- Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

Az eredmények számítása

Számítsuk ki az átlag cpm értéket minden teszt cső párra.

Számítsuk ki a B/T (%) értékeket minden standardra, ellenőrző szérumra és mintára az alábbi egyenlettel:

$$B/T (\%) = \frac{S1-S4 / NS, CI-II / M_x (\text{cpm})}{T (\text{cpm})} \times 100$$

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

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez a spline illesztő program jól alkalmazható a szendvics-típusú (IRMA) assay-khez hasonlóan.

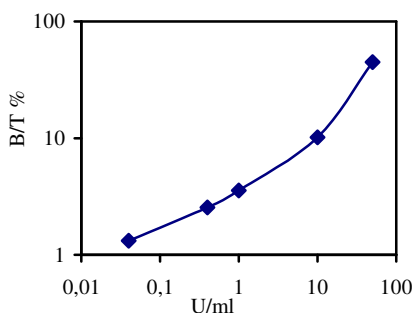
1. Táblázat: Folyamatábra, pipettázási kalauz
(térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S4	NS, CI-II	M _x
Standard		20		
Kontroll			20	
Minta				20
Tracer	25	25	25	25
Vortex majd inkubáció 18-24 órán át szoba hőmérsékleten				
Protein A	50	50	50	
Vortex majd inkubálás 1 órán át 2-8 °C-on				
Precipitáló puffer (hideg)	1000	1000	1000	
Centrifugálás 2000 x g-n 30 percig 4°C-on				
Leszívás vagy a folyadék óvatos leöntése, szárítás itató papíron legalább 5 percig				
Radoaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

2. Táblázat: Jellemző mérési eredmények

Cső	Átlag cpm	B/T%	U/ml
T	25402		
NS	324	1,27	0,04
S1	789	3,11	0,4
S2	1056	4,16	1
S3	2938	11,56	10
S4	12213	48,08	50
CI	1121	4,41	1,28
CII	3424	13,48	12,44

1. Ábra: Tipikus standard görbe



Minőségi jellemzők

Kalibráció

A készlet munka-standardjainak koncentrációi önkényes egységek.

Analitikai érzékenység

Jelen készlet analitikai érzékenysége: 0,12 U/ml, a negatív szérumból meghatározva. Értéke egyenlő a kötés átlagos cpm értéke + háromszoros szórás kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Funkcionális érzékenység alatt azt a legkisebb koncentrációt értjük, amely már szignifikánsan különbözik a zéró koncentrációtól az inter-assay precíziós profil statisztikája alapján (20 % CV). A készlet funkcionális érzékenysége: 0,2 U/ml.

Specifitás

A kiváló minőségű tracer (I-125 jelzett Inzulin) biztosítja, hogy a direkt assay alapelv miatt csak az IAA-hoz fog kötődni és nincs keresztreakció IA2, GAD65, TG, TPO, TSH receptor és Acetilkinolin receptor elleni autoantitestekkel.

Pontosság és reprodukálhatóság

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag (U/ml) (n=15)	CV%	Átlag (U/ml) (n=10)	CV%
0,8	12	0,75	10
1,5	8,6	1	11
3,5	7,7	2,9	9
8,6	3,5	8,4	7
24,5	1,3	25,3	4

Várható referens tartomány

IAA	U/ml
negatív	< 0,4
pozitív	≥ 0,4

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

Az assay korlátai

Ez az assay nem alkalmazható azon páciensek esetében, akik inzulin terápiában részesülnek, mivel inzulin elleni antitestek lehetnek jelen a véréükben, ami fals pozitív eredményt adhat.

A negatív eredmény nem zárja ki az 1-es típusú diabéteszt. Az autoimmun válasz különbözik az egyénekben.

Egyetlen autoantitest jelenléte klinikai tünetek hiánya mellett alacsony prognosztikai értékű.

Nem minden autoantitest pozitív egyénben fejlődik ki az 1-es típusú cukorbetegség.

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 116,7 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	LOT	Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó	CONTROL	Kontroll
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CAL	Standard
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás	RBU	Rekonstitúciós puffer
	In vitro diagnosztikai eszköz	FA	Protein A
	Gyártó	PBU	Precipitáló puffer
	Radioaktív anyag	REF	Katalógus szám



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