

125
hTg [¹²⁵I] IRMA készlet
(REF: RK-51CT)

A hTg [¹²⁵I] IRMA készlet humán szérumban növekedési hormon (hTg) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 250 ng/ml mérési tartományban.

Bevezetés

A tiroglobulin egy jódglikoprotein, a glikozidos oldalláncok szerkezete és a jódzottség szempontjából eltérő mikroheterogenitású molekulák együttesét jelenti.

A leggyakoribb vérben előforduló formája a 660kDa-os dimer forma, (két azonos alegység, másodlagos kötésekkel összekapcsolódva) de a pajzsmirigyben nagyobb (tetramer) és kisebb (monomer) formák is megtalálhatók. A Tg a pajzsmirigyhormonok szintézisének és raktározásának helye. A pajzsmirigyben képződő Tg egy része a TSH stimuláció hatására, a T₄, T₃ molekulákkal együtt kerül a véráramlásba. A Tg mérés segítséget nyújt a pajzsmirigybetegségek diagnózisához. Segítségével, más készletekkel együtt differenciált diagnózis állítható fel. Segít a Graves's szindróma, a Hashimoto tireoditisz, tiroid adenoma, DTC (differenciált tiroid karcinóma) felderítésében. A készlet érzékenysége lehetővé teszi az alacsony Tg tartalmú minták pontos mérését is, ezzel a tumor kiújulást időben észre lehet venni.

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 epitopját ismerik fel. A két antitest egyike radiojóddal jelzett (jelző 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. 15-24 órás 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 koncentrációit kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

A készlet tartalma

- 1 flakon ¹²⁵I-TRACER (21 ml), pufferes oldat radioaktivitása <980kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 1 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítóval. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0,3 , 1 , 4,0 , 20 , 100 , 250 ng/ml. BCR CRM457 -re kalibrálva.
- 2 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM, (2 x 1 ml) 0,1 % nátrium-azid tartósítóval. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- HÍGÍTÓ SZÉRUM, 5ml 0,1% nátrium-azid tartósítóval.
- RECOVERY SZÉRUM, 1ml kékre színezett szérumban, 0,1% nátrium-azid tartósítóval.
- 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.
- MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítóval, 700 ml desztillált vízzel hígítandó.
1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben; pipetták (10, 100, 200 µL és 2 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatópapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadékedénnyel, 2 ml adagolási térfogatra

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben az Tg 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 reagensek előkészítése, tárolása

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 700 ml desztillált vízhez. A hígított mosóoldatot 2-8°C -on tároljuk a készlet lejáratiáig.

A recovery szérumban az első felnyitást követően -20 °C-on tárolandó készlet lejárati idején belül.

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

A recovery teszt végrehajtása:

Az anti-Tg antitestek jelenléte a szérumban befolyásolhatja a mért Tg koncentrációt, a valós koncentrációnál alacsonyabb értéket kapunk. Az anti-Tg antitestek zavaró hatása kimutatható recovery méréssel. A recovery mérést a "meghatározás menet-ében" leírtaknak megfelelően kell végrehajtani.

A recovery minta koncentrációját (500 ng Tg/ml körüli érték) minden mérés esetén meg kell határozni a hígító szérummal (recovery referencia cső (HR)), legalább 2 párhuzamosban.

Recovery a szérumban:

$$\frac{\text{ng Tg/ml Rx} - \text{ng Tg/ml Mx}}{\text{ng Tg/ml HR}} \times 100 = \text{Recovery\%}$$

75 és ¹²⁵0 közötti recovery megfelelő (2 párhuzamos mintamérés esetén!). A <70% és >130% recovery esetén a mintára mért Tg koncentráció nem tekinthető valós adatnak.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

- Jelöljük meg két-két műanyag csövet az alábbi célra:
 - összes beütésszám (T) mérésére, valamint két-két bevont csövet az alábbiak szerint:
 - standard (H, S1-6)(H=NSB, hígítószérumban)
 - recovery referencia cső (HR)
 - ellenőrző szérumban (C)
 - vizsgálandó minták (Mx)
 - minta recovery (Rx)
- Pipetázunk 10µl RECOVERY MINTÁT a recovery referencia csőbe (HR) és a minta recovery csőbe (Rx)
- Mérjük meg 100 µl HÍGÍTÓ SZÉRUMot (H (NSB), HR), STANDARDot (S1-6), illetve ELLENŐRZŐ SZÉRUMot (C), és szérumban (Mx és Rx) a megfelelő csőbe.
- Mérjük meg minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
- Örvénykeverővel homogenizáljuk a csövek tartalmát, kivéve a T jelű csöveket.
- Fedjük le a kémcsőveket záró-fóliával, majd inkubáljuk a csöveket 15-24 órán keresztül szobahőmérsékleten.
- Helyezzük a kémcsőveket rögzítő kémcsőtartó állványba, a T jelű csövek kivételével.
- Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülülészt, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
- Ismételjük meg a mosási lépést kétszer, a 8.pontnak megfelelően.
- Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

Kémcső Reagens	T	H	S ₁ -S ₆	M _x	R	H _R	CI-CII
Standard			100				
Minta				100	100		
Kontroll szérum							100
Recovery minta					10	10	
Hígító szérum		100				100	
Tracer	200	200	200	200	200	200	200
Vortex, inkubáció 15-24 óra 25°C-on							
Mosópuffer	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron							
A mosási lépést 2x megismételjük							
Radioaktivitás mérés (60 mp/cső)							

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

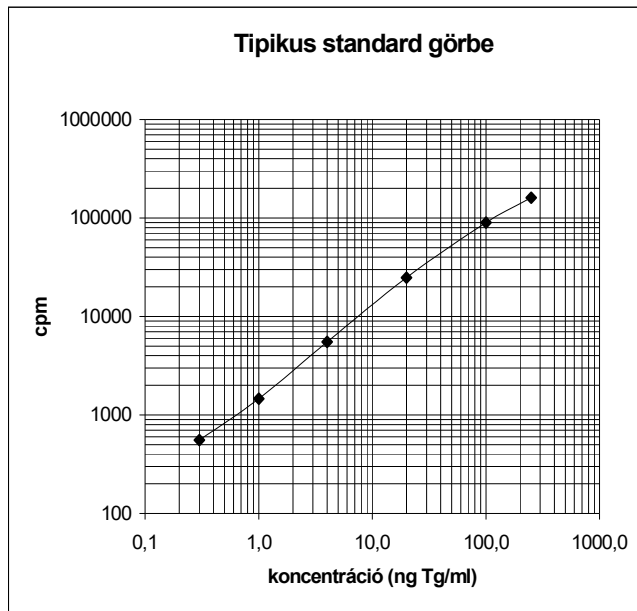
$$B/T (\%) = \frac{S1-6/Mx/ (cpm) - H(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

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

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez speciálisan immunometrikus assayre kifejlesztett spline illesztő program használatát javasoljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valószínűk, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység).

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

	Tg ng/ml	cpm 1	cpm 2	cpm átlag	Tg ng/ml
Total	-	393128	394123	393626	-
H (NSB)	0	167	178	171	-
S _{0,3}	0,3	552	559	556	-
S _{1,0}	1,0	1448	1476	1462	-
S _{4,0}	4,0	5517	5500	5509	-
S ₂₀	20	24756	24712	24734	-
S ₁₀₀	100	90031	90207	90119	-
S ₂₅₀	250	158821	162358	160590	-
CI	-	2458	2502	2480	1,99
CII	-	70250	70511	70380	69,8



1. ábra

Tipikus standard görbe, (Mintameghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

B _{max} /B ₀	>500
NSB	<0,075%

Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 20 párhuzamos mérésből meghatározva < 0,06 ng/ml, és 1 hónapos traccernél sem emelkedik 0,1 ng/ml fölé. Értéke egyenlő a 0-standard B₀+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 20000 ng/ml alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 250 - 20000 ng/ml tartományba esik, ezzel a készlettel mérve, a koncentrációját több mint 250 ng/ml-nek fogjuk találni.

Hígítási teszt

Minta sorszám	Hígítási faktor	Várt érték ng/ml	Mért érték ng/ml	Hígítási recovery %
1		68,5	68,5	
1	2	34,0	34,3	101,0
1	4	16,7	17,0	101,6
1	8	8,2	8,3	101,0
1	16	4,1	4,2	104,2
2		93,6	93,6	
2	2	46,4	45,2	97,5
2	4	22,9	22,0	96,3
2	8	11,3	10,7	95,2
2	16	5,6	5,3	95,2
3		67,5	67,5	
3	2	33,6	31,8	94,7
3	4	16,6	15,4	93,0
3	8	8,2	7,5	92,3
3	16	4,0	3,7	93,0

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérummintákhoz ismert mennyiségű hTg-t adva, a visszanyerés (recovery):

	A minta alapkonzentrá- ciója (ng/ml)	Koncentráció recovery mintával (ng/ml)	Recovery %
minta 1	6,9	60,6	101
minta 2	15,5	69,9	103
minta 3	99,5	152,6	100
minta 4	2,3	58,8	107
minta 5	10,4	63,5	100
minta 6	57,3	109,0	97
minta 7	6,5	62,0	105
minta 8	7,0	61,0	102
minta 9	2,5	52,8	95
minta 10	106,0	159,4	101
minta 11	32,4	83,8	97
minta 12	7,4	60,8	101
minta 13	41,0	88,2	89
minta 14	8,8	63,9	104
minta 15	0,9	56,9	106
minta 16	12,9	61,0	91
minta 17	0,3	51,1	96
minta 18	6,2	61,3	104
minta 19	3,9	58,7	103
minta 20	2,0	51,6	94
minta 21	3,4	52,2	92
minta 22	3,3	55,7	99
minta 23	43,9	91,8	90
minta 24	10,1	62,7	105
minta 25	8,6	62,9	109
minta 26	0,6	36,8	72
minta 27	0,3	54,8	109
minta 28	11,4	52,3	82
minta 29	10,3	63,8	107
minta 30	7,9	64,5	113
minta 31	0,6	57,2	113
minta 32	33,3	76,3	86
minta 33	5,0	64,8	120
minta 34	11,5	68,3	114
minta 35	22,9	71,0	96
minta 36	2,3	50,4	96
minta 37	7,9	53,9	92
minta 38	0,5	39,5	78
minta 39	5,4	48,2	86
minta 40	17,2	73,7	113
minta 41	190,8	235,4	89
minta 42	77,5	132,1	109
minta 43	5,1	61,5	113
minta 44	23,1	66,2	107
minta 45	76,4	119,4	107
minta 46	4,7	47,2	106
minta 47	154,2	199,1	112
minta 48	2,3	44,2	104

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 20 független mérésben értékelve, 4 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

intra-assay		inter-assay	
átlag (ng/ml)	CV %	átlag (ng/ml)	CV %
11,4	1,8	11,5	2,2
118,7	1,9	117,8	2,7
85,4	2,2	86,2	1,9
5,9	2,6	6,0	1,7
4,9	2,0	5,1	2,0
1,3	2,7	1,3	3,0
0,7	5,9	0,7	6,3

Várható referens tartomány:

Egészséges felnőtt: 2 - 70 ng/ml

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

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közöséges 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 író tollal "meggyűrűzni").

2) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerből adagolható, amelyhez legalább 1 l-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölött végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kellően nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlő pipetta használható.

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó Tg 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 55 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	CONTROL	Kontrol
LOT	Gyártási szám	CAL	Standard
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CT	Bevont cső
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás	WASHB	Mosópuffer
IVD	In vitro diagnosztikai eszköz	DIL	Hígító szérum
	Gyártó	REC	Recovery minta
REF	Katalógus szám		2-8°C-on tárolandó
	Radioaktív anyag		



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

Technikai e-mail: <mailto:immuno@izotop.hu>

Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu



IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247

01419