

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

Az Anti-hTG [<sup>125</sup>I] 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, 100 µl térfogatból 42 szérumból anti-hTG koncentrációja határozható meg, a 30-3000 IU/ml mérési tartományban.

A készlet RIA automatán való feldolgozásra alkalmas.

### Bevezetés

A humán thyreoglobulin (hTG) a pajzsmirigy folliculáris sejteiben található, kb. 650 ezres molekulatömegű glikoprotein. A jódfelvétel és jódbeépülés mátrixául szolgál, a pajzsmirigy sejtek kolloid csepp formájában felveszik a folliculusból, 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 jelentőségű.

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

### A mérés elve

Az anti-hTG mennyiségi meghatározására alkalmas jelen készlet a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. A mintában lévő anti-TG és a tesztcső falához kötött anti-TG vetélkedik a rendszerben állandó mennyiségben jelen lévő <sup>125</sup>I-dal jelzett TG kötőhelyeiért.

A vetélkedés eredményeképp a cső felületén kötött radioaktivitás fordítottan arányos a minta anti-TG koncentrációjával, gamma-számlálással mérhető.

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 <sup>125</sup>I-TRACER, felhasználásra kész. Radioaktivitása <260kBq.  
22 ml pufferes oldat, 0,1% nátrium-azidot és piros színezéket tartalmaz.

2. 6 üveg STANDARD (S0-5), felhasználásra kész. 6 x 0,75 ml humán plazma, 0,1 % nátrium-azid tartósítással.  
Konc.: 0; 30; 100; 300; 1000; 3000 IU/ml.

3. 2 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM (CI, CII), felhasználásra kész humán plazma 0,1 % nátrium-azid tartósítással.  
Várható értékeiket a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2 x 50 db, 12 x 75 mm-es szabvány RIA kémcső monoklonális anti-hTG antitesttel bevonva, zárt műanyag dobozban.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

### A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben; pipetták (100, 200 és 1000 µl-es térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); desztillált víz; rázógépj; kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta, vagy itató papír, gamma-számláló.

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 szérumot igénylő laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben az anti-TG meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat +2- +8 °C-on, későbbi felhasználás esetén -18 °C-on mélyhűtve tartjuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumot ne használjunk mérésre.

### A reagens 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

- Jelöljük meg két -két csövet: összes beütésszám (T), standard (S0-S5), ellenőrző szérumok (CI, CII); vizsgálandó minták (M).
- Mérjük 100 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMot, és SZÉRUMMINTÁT a megfelelő csövekbe.
- Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
- Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba, a T jelű csövek kivételével. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban

legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten. (min. 600 rpm ajánlott)

- Adjunk minden csőhöz 1 ml desztillált vizet.
- A csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
- 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                                  |     | 100   |      |      |
| Ell. szérum                               |     |       | 100  |      |
| Minta                                     |     |       |      | 100  |
| Tracer                                    | 200 | 200   | 200  | 200  |
| Kevertetés, 2 órán át szobahőmérsékleten  |     |       |      |      |
| Desztillált víz                           |     | 1000  | 1000 | 1000 |
| Folyadék leöntése, szárítás itató papíron |     |       |      |      |
| Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)    |     |       |      |      |
| Adatfeldolgozás                           |     |       |      |      |

### Az eredmények számítása

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Számítsuk ki a  $B_0/T$ -t az alábbi egyenlettel:

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

(Ez az érték a mérés egyik minőségi mutatója, amelynek kiszámítása a minta-koncentrációk meghatározásához nem feltétlenül szükséges.) Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérumok és a minták kötési százalékát az alábbi egyenlettel:

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

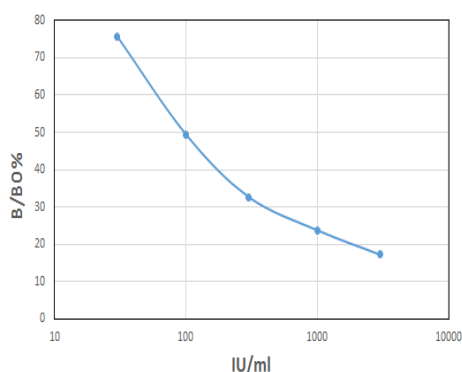
Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. táblázat.

Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított  $B/B_0$  % értékeket a standard koncentrációjának függvényében. Az így kapott standard görbéről olvassuk le a vizsgált minta  $B/B_0$  % értékeihez tartozó koncentrációt. A görbén kívül eső értékeket ne próbáljuk extrapolációval meghatározni. Egy jellemző standardgörbét mutat az 1. ábra.

### 2. Táblázat: Jellemző mérési eredmények

| Csővek | Beütés-szám cpm | Átlag cpm | B/B0 % |
|--------|-----------------|-----------|--------|
| T      | 95 246          |           |        |
| S0     | 37 435          | 100       |        |
| S1     | 28 353          | 75,7      |        |
| S2     | 18 522          | 49,5      |        |
| S3     | 12 246          | 32,7      |        |
| S4     | 8 904           | 23,8      |        |
| S5     | 6 457           | 17,3      |        |
| CI     | 15 384          |           | 155    |
| CII    | 9 920           |           | 608    |

**1. Ábra: Tipikus standard görbe**  
(mintamérésre nem használható)



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 vagy spline illesztő program használatát javasoljuk.

**Minőségi jellemzők**

**Kalibráció**

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

**Analitikai érzékenység**

Jelen készlet analitikai érzékenysége: 8,6 IU/ml, a 0-standard egy assayben 20 párhuzamos mérésből meghatározva. Értéke egyenlő a kötés átlagos cpm értéke – kétszeres szórás (B<sub>0</sub> - 2\*SD) kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

**Pontosság és reprodukálhatóság**

Az intra-assay pontosság meghatározásához 7 humán szérum poolt mértünk meg 20 párhuzamossal egy sorozaton belül.

| Minta | Átlag IU/mL | Intra-assay CV% |
|-------|-------------|-----------------|
| M 1   | 702         | 14,0            |
| M 2   | 345         | 18,5            |
| M 3   | 79          | 7,3             |
| M 4   | 41          | 10,0            |
| M 5   | 27          | 7,5             |
| M 6   | 16          | 15,4            |
| M 7   | 13          | 14,7            |

Az inter-assay pontosságot 7 humán szérum pool 20 független méréséből számoltuk. A méréseket 2 operátor végezte eltérő összetételű készletekkel.

| Minta | Átlag IU/mL | Inter-assay CV% |
|-------|-------------|-----------------|
| M 1   | 801         | 16,1            |
| M 2   | 369         | 12,3            |
| M 3   | 79          | 7,3             |
| M 4   | 40          | 7,4             |
| M 5   | 28          | 8,7             |
| M 6   | 17          | 11,8            |
| M 7   | 10          | 24,9            |

**Linearitás (hígítási teszt)**

Három 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:

$$Y = 1.0769 x - 23,604 \quad R = 0,9895 \quad n = 9$$

**Várható referens tartomány**

290 véradó mintájának anti-TG koncentrációját vizsgáltuk.

Méréseink alapján – teljes populációra nézve – kórosnak tekinthetjük a 100 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. 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").
- 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. Egyenetlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis (fals magas!) mérési eredményekhez vezethet!

**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 plazmát tartalmazó komponensek előállításához felhasznált plazma HIV-Ab (anti-HIV 1/2) és HBsAg Hepatitis C Ab és Treponema Ab vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán plazmát 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 28 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.

**Tárolás**

A készlet komponensei 2-8°C között tárolhatók a 67 napos lejáratú időn belül.

|   |  |   |                  |
|---|--|---|------------------|
|    | Lejáratú 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          |  | Gyártó           |
| <b>REF</b>  | Katalógus szám                         |  | Radioaktív anyag |



**WEB oldal:** <http://www.izotop.hu>  
**Technikai e-mail:** [immuno@izotop.kfkipark.hu](mailto:immuno@izotop.kfkipark.hu)  
**Kereskedelmi e-mail:** [commerce@izotop.kfkipark.hu](mailto:commerce@izotop.kfkipark.hu)



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