

RK-34CTMCE040501
FT₄ [¹²⁵I] RIA készlet
(Ref: RK-34CT1)

A FT₄ [¹²⁵I] RIA készlet humán szérumban szabad tiroxin (FT₄) tartalmának in vitro direkt meghatározására szolgál. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 42 minta FT₄ koncentrációja határozható meg, a 0-100 pmol/l (0-7,77 ng/dl) mérési tartományban.

Bevezetés

A tiroxin vagy 3,3',5,5'-tetrajód-tironin (T₄) a pajzsmirigyben keletkezik. Molekula tömege 777 g. Felezési ideje 6-7 nap. A keletkezett T₄ hormon körülbelül 0,03 %-a kering szabad formában, amely a biológiai aktivitást is magában hordozza. A biológiailag inaktív kötött forma " thyroxine binding globulin"-hoz (TBG), "thyroxine binding pre-albumin"-hoz (TBPA) és albuminhoz kapcsolódik. Hipotireózis esetén csökken, míg hipertireózis esetén növekszik a szérumban FT₄ koncentrációja.

A mérés elve

Az FT₄ mennyiségi meghatározására alkalmas jelen készlet működése a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. A mintában lévő FT₄ vetélkedik a rendszerhez adott konjugátummal (FT₄ analóg) a korlátozott számú ¹²⁵I-dal jelzett monoklonális antitest (tracer) kötőhelyekért. A reakció lejárásakor a reaktív csoport a konjugátumhoz kötött jelzett antitestet megköti. A bevonat felületén lévő jelzett antitest radioaktivitása, amely fordítottan arányos a minta FT₄ koncentrációjával, gamma-számlálóval mérhető.

A standardok relatív kötésiértékei és koncentrációi ismeretében szerkesztett méro-(standard)-görbéről, a minták relatív kötésiértékei alapján, azok FT₄ koncentrációja meghatározható.

A készlet tartalma

- 1 üveg ¹²⁵I-TRACER, felhasználásra kész. 55 ml pufferes oldat, radioaktivitása < 260 kBq, 0,1% nátrium-azidot tartalmaz.
- 1 üveg FT₄ KONJUGÁTUM, felhasználásra kész, 55 ml pufferes oldat, 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. Óvjuk a közvetlen napfényt!
- 6 üveg STANDARD₍₁₋₆₎, felhasználásra kész humán szérumban, 0,1% nátrium-azid tartósítóval, 6 x 0,5 ml, koncentrációjuk 0 (S₁), 6 (S₂), 12 (S₃), 25 (S₄), 50 (S₅) és 100 (S₆) pmol/l.

1 üveg ELLENORZO SZÉRUM, liofilizált, 0,1% nátrium-azid tartósítóval, rekonstituálendő 0,5 ml desztillált vízzel. Az ellenorzo szérumban koncentrációját a kísérő minőségellenorzési bizonylat tartalmazza.

2 doboz BEVONT CSO, felhasználásra kész. 2x50 db 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag tartódobozban.

1 db Minőségellenorzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

kémcsótartó, rugalmas kémcsörögzőtő kiképzésben
automata pipetták, 50 és 500 µl-es térfogatra, eldobható muanyag hegyekkel
örvénykevero (vortex)
rázógép vagy orbitális kevero
kémcsózáró muanyag fólia
papírvatta vagy itatóspapír
gamma-számláló

Ajánlott: sorozat-adagoló pipetta, orbitális kevero

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálendő szérumban mintákat a más, ugyan-csak szérumban igénylo laboratóriumi vizsgálathoz követett módon készítjük el. Amennyiben az FT₄ meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat +2 - +8 °C-on, későbbi felhasználás esetén -12 °C alatt mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumban mintákat ne használjunk mérésre.

A reagens előkészítése

A liofilizált normál ellenorzo szérumban rekonstituáljuk 500 µl desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot 20 percig még ne használjuk fel. A mérés megkezdése előtt engedjük szobahőmérsékletre melegedni a reagens oldatokat, és a mérendő mintákat is. A -20 °C-ról felolvasztott szérumban homogenizáljuk felhasználás előtt örvénykeverővel.

A meghatározás menete

(ld. folyamatábra, 1. táblázat)

- 1) Vegyük elő valamennyi komponenszt a hideg tárolóból és hagyjuk az összes reagenst szobahőmérsékletre melegedni.
- 2) Jelöljük meg két-két készletben lévő muanyag csövet az
- összes beütésszám (T) mérésére, valamint
- standard (S₁₋₆)(S₁=B₀)
- ellenorzo szérumban (C)
- vizsgálendő minták (M_x)
- 3) Felhasználás előtt a mintákat és az összes reagenst alaposan homogenizáljuk, de kerüljük el a habzást.

- 4) MÉRJÜNK 50 µl STANDARDot (S₁₋₆), illetve ELLENORZO SZÉRUMot (C), és szérummintát (M_x) a megfelelő csövekbe.
- 5) MÉRJÜNK minden csobe 500 µl KONJUGÁTUM oldatot, kivéve a T jelu csöveket.
- 6) MÉRJÜNK minden csobe 500 µl TRACER oldatot. A kinetikus effektus kiküszöbölése érdekében az utolsó reagens hozzáadásának időtartamát a lehetséges minimumra kell szorítani. Általános szabályként ez a lépés öt percenél ne legyen hosszabb. Ez célszerűen sorozat-adagoló pipettával biztosítható.
- 7) A csöveket fedjük le légmentesen műanyag fóliával. Ha T jelu cső is készült, helyezük külön a többi csótól.
- 8) Helyezzük a kémcsöveket rögzítős kémcsótartó állványba, a T jelu csövek kivételével. Erosítsuk fel az állványt a keverőgépre, vagy az orbitális keverőre, úgy, hogy az biztonságosan rögzítve legyen.
- 9) Indítsuk el a keverést, és állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsoban mozgásban legyen. Kevertessük ezzel a beállítással 2 órán keresztül szobahőmérsékleten.
- 10) A csótartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntjük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 5 percig. Gyozodjunk meg arról, hogy a cső peremén nem maradtak folyadékcseppek.
- 11) MÉRJÜNK meg az egyes csövek radioaktivitását gamma-számlálóval.
- 12) Számítsuk ki az eredményeket a következő fejezet szerint.

1. Táblázat. Folyamatábra, Pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

Reagens	Totál (T)	Standard S _{1-S₆}	Minta (M _x)	Ellenorzo szérum (C)
Standard		50		
Minta			50	
Ellenorzo szérum				50
Konjugátum		500	500	500
Tracer	500	500	500	500
Gépi kevertetés 2 órán át szobahőmérsékleten.				
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron min. 5 percig.				

Radioaktivitás-mérés (legalább 60 másodperc/cső).
Adatfeldolgozás.

Az eredmények számítása. A nem specifikus kötés (NSB) meghatározása nem szükséges az assayben mivel az nem befolyásolja az FT₄ koncentráció meghatározását. Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét. Számítsuk ki a B₀/T-t az alábbi egyenlettel:

$$B_0/T \% = 100 * S_1(\text{cpm}) / T(\text{cpm})$$

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

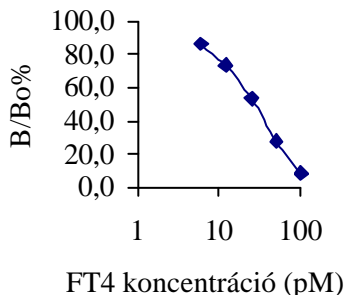
$$B/B_0 \% = 100 * S_{2-6} ; C ; M_x(\text{cpm}) / S_1(\text{cpm})$$

Egy jellegzetes mérési adatsort foglalj össze a 2. táblázat. Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított B/B₀ értékeket a standard koncentrációjának függvényében (lásd az 1. ábrát). Az így kapott standardgörbéről (mégörbéről) olvassuk le a vizsgált minta B/B₀ értékeihez tartozó koncentrációt.

A korszerű mérőeszközök lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is.

2. táblázat. Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés CPM1	Beütés CPM2	Átlag CPM	B/T %	B/Bo %
T	97490	97012	97251		
S1	65786	66455	66121	68,0	100,0
S2	57461	56841	57151	58,8	86,4
S3	49265	47834	48550	49,9	73,4
S4	35149	35469	35309	36,3	53,4
S5	18395	18194	18295	18,8	27,7
S6	5695	5690	5693	5,9	8,6
C	44652	44275	44464	45,7	67,2



1. ábra

Tipikus standardgörbe

Átszámítás az SI mértékegységre

$$1 \text{ nmol/l} = 0,078 \text{ µg/dl}$$

$$1 \text{ µg/dl} = 12,87 \text{ nmol/l}$$

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB	<1,5 %
B ₀ /T	69 ± 9 %
ED-50	27 ± 6 pmol/l

Specifitás

0 koncentrációjú standardhoz különböző koncentrációban T₃-at illetve r-T₃-at adunk és mértük a látszólagos FT₄ koncentrációt. Az eredmények az alábbi táblázatban láthatók.

hozzáadott T ₃ (nmol/l)	mért FT ₄ (pmol/l)	hozzáadott r-T ₃ (nmol/l)	mért FT ₄ (pmol/l)
1	<DL	1	<DL
10	0,8	10	0,9
100	6,3	100	1,7
500	32,7	500	9,1
1000	57,8	1000	18,6

DL – detektálási limit

Érzékenység

A kimutatási határ (érzékenység) a 0-standard (± 2*SD szórás által meghatározott) konfidencia-intervallumától szignifikánsan megkülönböztethető legkisebb koncentrációt jelenti. Esetünkben ez 10 párhuzamossal végzett mérésből meghatározva 0,7 pmol/l.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 10 párhuzamossal egy mérési sorozatban, az inter-assay pontosságot duplikát méréssel 7 független mérésben határoztuk meg. A kapott adatokat az alábbi táblázat foglalja össze:

	Intra-assay		Inter-assay	
	Átlag (pmol/l)	CV %	Átlag (pmol/l)	CV %
1	4,9	7,3	4,9	10,2
2	8,42	3,47	9,15	5,57
3	13	1,49	14	2,83
4	15,8	1,28	15,5	6,63
5	20,2	1,74	22,8	3,58
6	31,5	0,94	39,9	7,02
7	57,8	2,05	70,7	3,89

Várható referens tartomány:

A várható referens tartomány becsléséhez meghatároztuk egészségesnek feltételezett (TSH mérés) vérérdők FT₄ koncentrációt 2 párhuzamos mérésből.

243 vérérdő nő (kor: átlag ± SD 37,8 ± 11,3, tartomány 19 - 69 év) szérumának FT₄ koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag ± SD 14,26 ± 1,91 pmol/l, tartomány 10,1 - 22 pmol/l.

243 vérérdő férfi (kor: átlag ± SD 29,0 ± 10,5, tartomány 19 - 61 év) mintájának FT₄ koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag ± SD 15,4 ± 2,32 pmol/l, tartomány 10,1 - 22,5 pmol/l.

486 vérérdő férfi és nő (kor: átlag ± SD 33,4 ± 11,7, tartomány 19 - 69 év) mintájának FT₄ koncentrációját mérve a statisztikai adatok:

átlag \pm SD 14,83 \pm 2,20 pmol/l, tartomány 10,1 – 22,5 pmol/l.

Csak statisztikai megfontolások alapján ajánlott referens tartomány (átlag \pm 2*SD szerint) 10,4 – 19,2 pmol/l. **Statisztikai megfontolások és klinikai tapasztalatok alapján javasolt referens tartomány 10-22 pM.**

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

Tárolás

A készlet komponensei felnyitás előtt és után 2-8 °C között tárolhatók a lejáratí idon belül. A rekonstituált ellenorzo szérum -12 °C alatt 2 hónapig tárolható.

A készlet lejáratí ideje

A reagensek tartóssága a gyártástól számítva általában 6-8 hét. A pontos lejáratí idó a kísérol bizonylaton és a dobozcímken van feltüntetve. A tartósság optimális kihasználására javasoljuk a laboratóriumoknak, hogy rendeléseiket a készlet-gyártási naptárhoz igazítsák.

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó FT₄ készletének komponenseivel.

Biztonsági óvórendszabályok

Radioaktivitás

















A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

Fertőzésveszély

A kitben 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 113,5 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 csatorna hálózatba.

	Lejáratí idó		Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó		Kontrol
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok		Standard
	Biológiai veszély		Bevont cso
	Lásd használatí utasítás		Tracer
	In vitro diagnosztikai eszköz		Konjugátum
	Gyártó		Katalógus szám
	Radioaktív anyag		

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