

FERRITIN [¹²⁵I] IRMA készlet (REF: RK-900CT)

A FERRITIN IRMA [¹²⁵I] készlet humán szérum FERRITIN tartalmának direkt meghatározására szolgál. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 42 minta FERRITIN koncentrációja határozható meg 0-1000 ng/ml méréstartományban.

Bevezetés

A ferritin mintegy 25% vasat tartalmazó protein (molekulatömege megközelítőleg 450.000). A tárolt vas biológiailag mobilizálható formában van, így hemoglobin szintézisre használható. Alacsony ferritin szint a szervezet vasraktárának kimerülését jelzi, míg magas ferritin szintek krónikus vastöbblet állapotában (főleg haemochromatosis) mérhetőek. Emelkedett ferritin szinteket eredményez a viszonylag nagy koncentrációjú szervek (pl. máj, lép) károsodása is.

A mérés elve

A készlet működése a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) elvén alapul. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitópját ismerik fel. A két antitest egyike radiojódval jelzett (jelző antitest), a másikuk jelöletlen (ún. "capture" antitest).

A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe („szendvics”) a reaktív kémcső felületén, mint szilárd fázison kötődik meg. 2 órás reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálással mérjük a radioaktivitást.

A szilárd fázison mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő FERRITIN 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, piros színezékekkel, 0,1 % nátrium-azid tartósítással. Radioaktivitása < 740 kBq.
2. 6 üveg STANDARD (6 x 0,5 ml), felhasználásra kész, humán lépből készült ferritin ló szérumban, 0,1 % nátrium-azid tartósítással. *Koncentrációjuk (S1 – S6): 0, 5, 20, 70, 270, 1000 ng/ml.* Kalibrálva a 94/572 WHO standardra.
3. 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM (1 x 0,5 ml) felhasználásra kész. Humán szérum, 0,1 % nátrium-azid tartósítással. Várható értékét a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
4. 2 doboz BEVONT CSŐ (2x50 db), 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.
5. 1 flakon MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM (20 ml), 0,2 % nátrium-azid tartósítással, 700 ml desztillált vízzel hígítandó.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörögzőtő kiképzésben, 40 µl-es precíziós mikropipetta, 200 µl-es és 2 ml-es ismétlő pipetta, örvénykeverő (vortex), orbitális keverő, papírvatta, vagy itatós-papír, gamma-számláló.

Ajánlott: folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadék-edénnyel, 2 ml adagolási térfogatra (ekkor a 2 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 a FERRITIN-meghatározás a mintavételt követő 1 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 legmagasabb standard értéknél magasabb koncentrációjú minták analizisét hígítás után ismételtlen mérjük meg. Hígításhoz a nulla standard (S0) használható fel. Ajánlott hígítás: 60 µl S0, 60 µl minta. A mintát adjuk a S0-ra, majd háromszor szívjuk fel és nyomjuk ki a kapott oldatot a pipettahegyből.

A reagensek előkészítése, tárolás

A készlet komponensei 2-8 °C között tárolhatók a lejárati időn belül.

A mosópuffer koncentrátumot öntsük 700 ml desztillált vízhez. A kész oldat 2-8 °C-on a készlet lejárati idejéig tárolható.

FIGYELEM! A mérés megkezdése előtt a reagens oldatokat, és a mérendő mintákat is engedjük szobahőmérsékletre melegedni majd alaposan homogénizáljuk őket, de kerüljük el a habzást.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két-két csövet az alábbi célra:
 - összes beütésszám (T)
 - standard (S1-6)(S1=NSB)
 - ellenőrző szérum ©
 - vizsgálandó minták (M_x)
2. Mérjük 40 µl Standardot (S1-6), illetve Ellenőrző szérumot ©, és szérummintát (M_x) a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 200 µl Tracer oldatot.
4. Örvénykeverővel homogénizáljuk a csövek tartalmát, kivéve a T jelű csöveket. Ha inkubáláshoz orbitális keverőt használunk, a kémcsövek egyedi keverésére nincs szükség. A csöveket – a T jelű csövek kivételével – helyezzük olyan állványba, mely biztosan rögzíti azokat, majd fedjük le őket zárófoliával. Rögzítsük az állványt a rázógépre.
5. Indítsuk el a rázógépet, és állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi csőben mozgásban legyen.

Ezzel a kevertetéssel inkubáljuk a csöveket 2 órán keresztül szobahőmérsékleten.

6. Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csöveket az állvánnyal együtt fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót. A tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig. Győződjünk meg arról, hogy a csövek peremén nem maradtak folyadék-cseppek, majd fordítsuk vissza a szeparáló állványt.
7. Ismételjük meg a 6. lépést.
8. Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gamma-számlálással, legalább 60 másodperc számlálási idővel.

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

	T	S1-S6	C	M
Standard		40		
Ell. Szérum			40	
Minta				40
Tracer	200	200	200	200
Kevertetés 2 órán át szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron				
Radoaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

Az eredmények számítása

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 szükség lehet a specifikus kötési értékekre. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az S1 beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

$$B/T (\%) = \frac{S2-6/C/M_x (\text{cpm}) - S1 (\text{cpm})}{T (\text{cpm})} \times 100$$

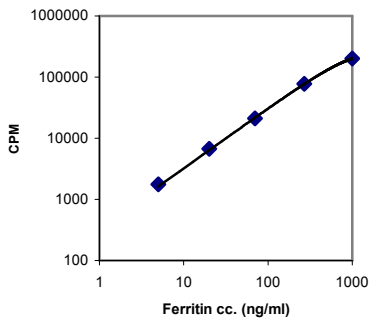
A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali („online”) számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez a simított spline eljárást ajánljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valósak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység)

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Cső	Átlag cpm	Bo/T%	ng/ml
T	292288		
S0	55	0,02	
S1	1755	0,60	

S2	6694	2,29	
S3	20997	7,18	
S4	77248	26,4	
S5	201928	69,1	
C	7545		23,9

90,2	1,45	67,3	5,12
365	1,21	92,4	4,43
448	2,49	195,5	3,83
		366,4	3,76
		506,8	3,67



1. ábra
Jellemző standard görbe

Minőségi jellemzők

A minőségi jellemzőket 0-5 napos tracerrel, 2 mosással nyertük.

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T <0,06%

Bmax/T > 53 %

Analitikai érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 10 párhuzamos mérésből meghatározva 0,09 ng/ml. Értéke egyenlő a 0-standard Bo+2*SD kötés értékéhez tartozó koncentrációval, mely értéket S1 és S2 közt lineáris interpolációval számoltuk.

Funkcionális érzékenység

A funkcionális érzékenységet alacsony koncentrációjú minták inter-assay méréséből határoztuk meg. 12 mérésből a 20 % CV-hez tartozó koncentrációra 0,3 ng/ml-t kaptunk.

Nagy-dózisú Hook effektus

Hígítás nélküli mintákra 74000 ng/ml-ig Hook effektust nem tapasztaltunk.

Specifitás

Keresztreakció

Humán májból preparált ferritinre a keresztreakció 100 %.

Ismert mennyiség visszanyerése (recovery)

11 egyéni szérumminta koncentrációját (bázis 5,9-291 ng/ml között) 91 ng/ml-el emelve a visszanyerés 92,9±8,7% volt.

Hígítási teszt (linearity)

6 egyéni szérumminta nulla standarddal végzett sorozat-hígításakor (hígítás 3,9,27) a várt (x) és a mért (y) koncentráció érték között az alábbi lineáris összefüggés adódott: $y = 0,9338x + 0,8331$ R = 0,9999 n=18

Pontosság és reprodukálhatóság

Az intra-assay pontosságot 5 mintára, 10 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 7 mintára, 2 párhuzamossal, 12 független mérésben értékelve, az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (ng/ml)	CV %	átlag (ng/ml)	CV %
20,3	1,95	2,19	7,65
38,5	2,90	40,2	2,76

Várható referens tartomány

Meghatároztuk egészségesnek feltételezett véradók ferritin koncentrációit 2 párhuzamos mérésből, majd a koncentrációk logaritmusának átlaga ±2SD alapján számoltuk a referens tartományt.

98 véradó nő (kor: átlag±SD 32,9 ± 9,5, tartomány 19-49 év) szérumának ferritin koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag±SD 33,8 ± 27,4 ng/ml, tartomány 8,4-170 ng/ml.

Referens tartomány: 6-111 ng/ml

55 véradó nő (kor: átlag±SD 55,6 ± 3,8, tartomány 50-66 év) szérumának ferritin koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag±SD 47,7±46,7 ng/ml, tartomány 6,7-224 ng/ml.

Referens tartomány: 7-172 ng/ml

99 véradó férfi (kor: átlag±SD 36,7 ± 13, tartomány 19-64 év) szérumának ferritin koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag±SD 102,2±100,7 ng/ml, tartomány 10-299 ng/ml.

Referens tartomány: 17-321 ng/ml

Figyelem!

A megadott referens tartományok csak tájékoztató adatnak tekintendők, és nem helyettesíthetik a készletet felhasználó laboratóriumok saját területükre jellemző normálértékének megállapítását.

Az assay korlátai

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumot ne használjunk mérésre. Kerüljük a minták ismételt visszafagyasztását.

Egyéb tudnivalók

A reagensek a gyártástól számítva általában legalább 8 hétig felhasználhatók. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

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

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közönséges 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.

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsötört 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 alacsony!) mérési eredményekhez vezethet!

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel

felszerelt diszpenzerekből adagolható, amelyhez legalább 800 ml-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 ismétlődő pipetta használható.

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 75mg. 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 reagensek nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

	Lejárati idő		Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó		Kontrol
	Lásd használati utasítás		Standard
	In vitro diagnosztikai eszköz		Bevont cső
	Gyártó		Tracer
	Katalógus szám		Mosópuffer
	Radioaktív anyag		Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok
			Biológiai veszély



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

Technikai e-mail: immuno@izotop.hu

Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu



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