

## T<sub>4</sub> [<sup>125</sup>I] RIA készlet (REF: RK-11CT1)

A T<sub>4</sub> [<sup>125</sup>I] RIA készlet humán szérumban L-tiroxin (T<sub>4</sub>) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0-320 nmol/l (0-24,9 µg/dl) mérési tartományban.

### Bevezetés

A tiroxin vagy 3,3',5,5'-tetrajód-tironin (T<sub>4</sub>) a pajzsmirigyben keletkezik. Molekula tömege 777 g. A keletkezett T<sub>4</sub> hormon hordozza a keringésben résztvevő fehérjéhez kötött I<sub>2</sub> több mint 90 % -át. A hormon a keringésben legalább 99,9 %-ban " thyroxine binding globulin"-hoz (TBG), "thyroxine binding pre-albumin"-hoz (TBPA) és albuminhoz kötött formában van jelen.

A szérumban T<sub>4</sub> koncentrációjának alakulása érzékeny mutatója a pajzsmirigy állapotának. Hipotireózis esetén csökken, míg hipertireózis esetén növekszik a szérumban T<sub>4</sub> koncentrációja. Emellett T<sub>4</sub> koncentráció-növekedés tapasztalható terhességben, orális fogamzásgátló szedésekor és ösztrogén terápia során. T<sub>4</sub> koncentráció csökkenést okozhatnak egyes májelégtelenségek, nephrozis és androgén terápia.

### A mérés elve

A készlet működése a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. A [<sup>125</sup>I]-dal jelzett állandó mennyiségű T<sub>4</sub> vetélkedik a mintában jelenlevő (méréndő) jelzetlen T<sub>4</sub>-el a korlátozott számú antitest kötőhelyekért. A reakció lejátszódása alatt a reaktív kémcső az antitesthez kötött antigént megköti. A bevont cső felületén lévő jelzett antigén radioaktivitása, amely fordítottan arányos a minta T<sub>4</sub> koncentrációjával, gamma-számlálással mérhető.

A standardok relatív kötésiértékei és koncentrációi ismeretében szerkesztett mérő-(standard) görbéről, a minták relatív kötésiértékei alapján, azok T<sub>4</sub>-koncentrációja meghatározható.

### A készlet tartalma

- 1 flakon <sup>125</sup>I-TRACER (11 ml), pufferes oldat radioaktivitása <260kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 1 flakon ANTISZÉRUM (105 ml), pufferes oldat, 0,1 % mertiolát tartósítóval.
- 6 üveg STANDARD (6 x 0,5 ml), humán szérumban, 0,1 % nátrium-azid tartósítóval, koncentrációjuk (S<sub>1</sub> – S<sub>6</sub>): 0; 30; 60; 120; 200; 320 nmol/l.
- 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM, liofilizált, 0,1 % nátrium-azid tartósítóval, rekonstituálható 0,5 ml desztillált vízzel. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat  
1 db Használati utasítás

### A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcső rögzítő kiképzésben; pipetták (25, 100 és 1000 µl térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta

### A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben az T<sub>4</sub> meghatározás a mintavétel 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.

### A reagensek előkészítése, tárolása

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

A liofilizált normál ellenőrző szérumban rekonstituáljuk 500 µl desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot 20 percig még ne használjuk fel. A rekonstituált ellenőrző szérumban 2-8°C-on a készlet lejárataig tárolható.

### 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

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérumban (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 25 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérumban mintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 100 µl TRACER oldatot.
4. Mérjük minden csőbe 1000 µl ANTISZÉRUM oldatot, kivéve a T jelű csöveket.
5. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba, fedjük le őket légmentesen műanyag fóliával. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten.
6. A csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.

7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálással és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

### Az eredmények számítása

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Számítsuk ki a B<sub>0</sub>/T-t az alábbi egyenlettel:

$$S_1 \text{ (cpm)}$$

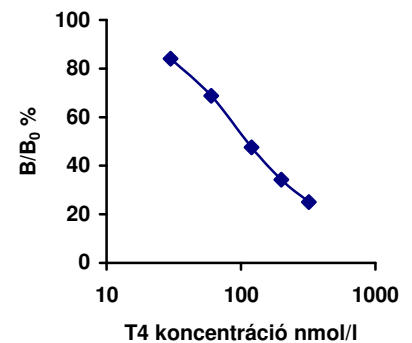
$$B_0/T\% = \frac{S_1}{T} \times 100$$

Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérumban és a minták kötési százalékát az alábbi egyenlettel:

$$S_{2-6} / C / M_x \text{ (cpm)}$$

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

Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított B/B<sub>0</sub> értékeket a standard koncentrációjának függvényében. Egy jellemző standardgörbét mutat az 1. ábra. Az így kapott standard görbéről (mérőgörbéről) olvassuk le a vizsgált minta B/B<sub>0</sub> értékeihez tartozó koncentrációt.



1. ábra  
Jellemző standard görbe  
(Mintamérésre nem használható!)

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	C	M
Standard		25		
Ell. szérumban			25	
Minta				25
Tracer	100	100	100	100
Antiszerumban		1000	1000	1000
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez a négyzetes logit-log illesztő program használatát javasoljuk. Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. Táblázat.

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/T %	B/B <sub>0</sub> %
T	96569 97401	96985		
S1	55229 54799	55014	56,7	100
S2	46319 46178	46249	47,7	84,1
S3	38211 37477	37844	39,0	68,8
S4	26413 25849	26131	26,9	47,5
S5	18928 18748	18838	19,4	34,2
S6	13624 13873	13749	14,2	25,0
C	31304 30608	30956	31,9	56,3

## Minőségi jellemzők

### Az assay jellemző paraméterei

B<sub>0</sub>/T = 55 ± 5%  
ED-50 = 10-26 nmol/l

### Specifitás

A specifitást a keresztreakcióval jellemezzük, úgy, hogy az 50%-os gátlást okozó T<sub>3</sub> koncentráció százszorosát osztjuk a keresztreakáló anyag ugyancsak 50%-os gátlást eredményező koncentrációjával.

**Keresztreakciók:** (az 50 %-os B/B<sub>0</sub>-hoz tartozó dózisok %-os aránya)

Tiroxin (T <sub>4</sub> )	100 %
3,5,3'-trijódtironin (T)	< 12,6 %
3,3',5'-trijódtironin (rT <sub>3</sub> )	< 0,89 %
3,3'-dijódtironin (T <sub>2</sub> )	< 0,11 %

### Érzékenység

A készlet analitikai érzékenysége < 7 nmol/l, 15 párhuzamossal végzett mérésből meghatározva. Értéke egyenlő a 0-standard + a 0-standard kétszeres standard deviációjának összegével.

### Pontosság

Az intra-assay pontosságot 10 párhuzamossal egy mérési sorozatban, az inter-assay pontosságot duplikát méréssel 6 független mérésben határoztuk meg.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag nmol/l	CV%	átlag nmol/l	CV%
67,6	6,8	43,8	3,4
88,8	3,0	88,1	2,8
161,5	4,7	90,1	3,8
203,5	2,9	185,6	6,0
262,0	2,3	270,5	3,1

## Várható referens tartomány

120 önkéntes véradó nő mintájának T<sub>4</sub> koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag: 99,2; SD: 26,3; minimum: 51,8; maximum: 178,4. Várható referens tartomány: 60 – 170 nmol/l.

118 önkéntes véradó férfi mintájának T<sub>4</sub> koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag: 94,9; SD: 19,4; minimum: 23,7; maximum: 153. Várható referens tartomány: 55 – 130 nmol/l.

Ezen önkéntes véradók (n=238) mintájának T<sub>4</sub> koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag: 97,1; SD: 23,1; minimum: 23,7; maximum: 178,4. Várható referens tartomány: 55 – 170 nmol/l.

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

### Átszámítás az SI mértékegységreől

1 nmol/l = 0,078 µg/dl  
1 µg/dl = 12,87 nmol/l

## A készlet korlátai

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

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó T<sub>4</sub> készletének komponenseivel.

A készletben található komponensek szérumban történő tiroxin mérésre optimalizáltak.

## 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) **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

### 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 14,5 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle 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	<b>LOT</b>	Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó	<b>CONTROL</b>	Kontrol
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	<b>CAL</b>	Standard
	Biológiai veszély	<b>CT</b>	Bevont cső
	Lásd használati utasítás	<b>TRAC</b>	Tracer
	In vitro diagnosztikai eszköz	<b>AS</b>	Antiszerum
	Gyártó		
<b>REF</b>	Katalógus szám		
	Radioaktív anyag		



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

Technikai e-mail: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

Kereskedelmi e-mail: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

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

\*01372\*