

RK-349CTACE210401
FT4 [I-125] RIA KIT
 (Ref: RK-349CT)

Az FT₄ [I-125] RIA készlet humán szérumban szabad tiroxin (FT₄) tartalmának in vitro direkt meghatározására szolgál 50 µl szérumban mintából a 0-80 pmol/l (0-6,22 ng/dl) mérési tartományban.

A készlet RIA automatán való feldolgozásra alkalmas.

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 reaktív csőfalán levő konjugáttal (FT₄ analóg) a korlátozott számú ¹²⁵I-dal jelzett monoklonális antitest (tracer) kötőhelyekért. A reakció lejártszódása után a bevont cső felületén lévő jelzett antitest radioaktivitása, fordítottan arányos a minta FT₄ koncentrációjával és gamma-számlálóval mérhető.

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

A készlet tartalma

1 flakon ¹²⁵I-TRACER, felhasználásra kész. 22 ml, ¹²⁵I-jelzett monoklonális antitest pufferes oldata, radioaktivitása < 260 kBq. Vörös színezéket és 0,1 % NaN₃ tartósítószer tartalmaz.

6 üveg STANDARD, felhasználásra kész. 6 x 1 ml, szabad T4 tartalmára nézve kb. 0 (S₁), 5 (S₂), 10 (S₃), 20 (S₄), 40 (S₅) and 80 (S₆) pmol/l, humán szérumban alapú 0,1% NaN₃ és 0,5% Kathon CG tartósítószer tartalmaz.

A standardok koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

2 üveg KONTROLL SZÉRUM, 2 x 1.0 ml felhasználásra kész, humán szérumban alapú 0,1% NaN₃ és 0,5% Kathon CG tartósítószer tartalmaz.

A kontroll szérumok koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, műanyag dobozban.

1 Minőség ellenőrzési bizonylat
 1 Használati utasítás.

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben; pipetták (50, 200 és 1000 µl-es térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); desztillált víz, rázógép; kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló, desztillált víz; örvénykeverő (vortex)

Ajánlott: sorozat-adagoló pipetta folyadékadagoló (1 ml-hez)

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérumbintákat a más, ugyancsak szérumban igénylő laboratóriumi vizsgálatoknál 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.

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

A meghatározás menete

(ld. folyamatábra, 1. táblázat)

- Vegyük elő valamennyi komponenst a hideg tárolóból és hagyjuk az összes reagenst szobahőmérsékletre melegedni.
- Jelöljük meg két-két készletben lévő műanyag csövet az
 - összes beütésszám (T) mérésére, valamint
 - standard (S₁₋₆)(S₁=B₀)
 - ellenőrző szérumban (C)
 - vizsgálandó minták (M_x)
- Felhasználás előtt a mintákat és az összes reagenst alaposan homogenizáljuk, de kerüljük el a habzást.
- Mérjük **50 µl** STANDARDot (S₁₋₆), illetve ELLENŐRZŐ SZÉRUMot (C), és szérumbintát (M_x) a megfelelő csövekbe.
- Mérjük minden csőbe **200 µl** TRACER oldatot.
- Helyezzük a kémcsöveket rögzítő kémcsőtartó állványba, a T jelű csövek kivételével. A csöveket fedjük le légmentesen műanyag fóliával. Erősítsük fel az állványt a keverőgépre úgy, hogy az biztonságosan rögzítve legyen.
- Indítsuk el a keverést, és állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen (200 – 600 rpm). Keveressük ezzel a beállítással 1 órán keresztül szobahőmérsékleten.
- Adjunk minden csőhöz **1 ml** desztillált vizet.

- A csőtartót fejfel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülzót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
- Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gamma-számlálóval.
- Számítsuk ki az eredményeket a következő fejezet szerint.

1.Táblázat Folyamatábra, Pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	Total	Standard	Ellenőrző szérumban	Minta
Standard		50		
Ellenőrző szérumban			50	
Minta				50
Tracer	200	200	200	200
Gépi kevertetés 1 órán át szobahőmérsékleten				
Deszt. víz		1000	1000	1000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitásmérés (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:

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

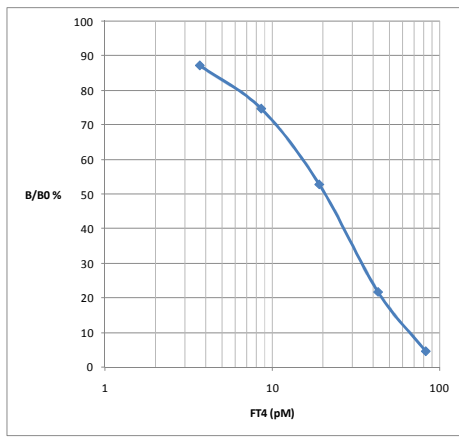
(Ez az érték a mérés egyik minőségi mutatója, amelynek kiszámítása a minta-koncentrációk meghatározásához nem feltétlenül szükséges.) Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérumban és a minták kötési százalékát az alábbi egyenlettel:

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

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 (mérőgörbéről) olvassuk le a vizsgált minta B/B₀ értékeihez tartozó koncentrációt.

2.Táblázat Jellemző mérési eredmények

Tubes	Mean cpm	B/T%	B/B ₀ %
T	103487		
S1	59621	57.6	100.0
S2	51965	50.2	87.1
S3	44510	43.0	74.7
S4	31450	30.4	52.7
S5	12913	12.5	21.7
S6	2695	2.6	4.5
CI	37757	36.5	63.3
CII	18416	17.8	30.9



1. Ábra

Tipikus standard görbe

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 a spline illesztő program használatát javasoljuk.

Minőségi Jellemzők

Átszámítás az SI mértékegységről

1 pmol/l = 0.0777 ng/dl

Érzékenység

Meghatároztuk a Limit of Blank (LoB), Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantitation (LoQ) érzékenységi mutatókat a CLSI EP17 előírás szerint.

Limit of Blank (LoB): 0,88 pmol/l

Limit of Detection (LoD): 1,28 pmol/l

Limit of Quantitation: (funkcionális érzékenység) (LoQ): 1,40 pmol/l

Specifitás

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

Hozzáadott L-T ₃ pmol/l	Mért FT ₄ pmol/l
10 000	<DL
100 000	1,7
500 000	18
1 000 000	36

Hozzáadott L-rT ₃ pmol/l	Mért FT ₄ pmol/l
10 000	<DL
100 000	<DL
500 000	2
1 000 000	5

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 20 párhuzamossal egy mérésben határoztuk meg míg az inter-assay pontosságot 109 mérésben két

párhuzamossal. Az eredményeket az alábbi táblázat foglalja össze.

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag (pmol/l)	CV%	Átlag (pmol/l)	CV%
1,4	9,0	2,1	12,1
4,2	7,2	9,5	5,3
12,6	2,0	14,7	2,7
18,7	1,4	30,9	3,5
31,6	1,4	35,4	2,2
50,7	0,7	57,6	6,5

Várható referens tartomány

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

Javasolt referens tartomány 10,3 - 22,8 pmol/l.

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. Egyetlen, 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 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 készletben lévő **humán szérumot** tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV-Ab, HBsAg, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest 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 30 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.

Minden állati terméket és származékot egészséges állatokból nyertek. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reagenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni!

Tárolás

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

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



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

Technical e-mail: immuno@izotop.hu

Commercial e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: (+36) 1-392-2577,

Fax: (+36) 1-395-9247

Felülvizsgálva: 2021 április