

# FERRITIN [<sup>125</sup>I] IRMA készlet (REF: RK-900CT)

A FERRITIN IRMA [<sup>125</sup>I] 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 radiojóddal 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. 1 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 <sup>125</sup>I-TRACER (21 ml), pufferes oldat, piros színezéssel, 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.*
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 kémcsőörögző 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 analízisét hígítás után ismételt mérjük meg. Hígításhoz a nulla standard (S1) használható fel. Ajánlott hígítás: 60 µl S1, 60 µl minta. A mintát adjuk az S1-re, majd háromszor szívjuk fel és nyomjuk ki a kapott oldatot a pipettahegyből.

## A reagens 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<sub>X</sub>)
2. Mérjük **40 µl** Standardot (S1-6), illetve Ellenőrző szérumot ©, és szérummintát (M<sub>X</sub>) 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 1 órán keresztül szobahőmérsékleten.

6. Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csöveket az állvánnyal együtt fejfel 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 szeperáló állványt.
7. Ismételjünk meg a 6. lépést.
8. Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gamma-számlálással, legalább 60 másodperc számlálási idővel.

### 1. Táblázat: Folyamatábra, pipetázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	C	M
Standard		40		
Ell. Szérum			40	
Minta				40
Tracer	200	200	200	200
Kevertetés 1 órán át szobahőmérsékleten				
Mosópuffer	2000	2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron				
Mosópuffer	2000	2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron				
Radioaktivitás 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.

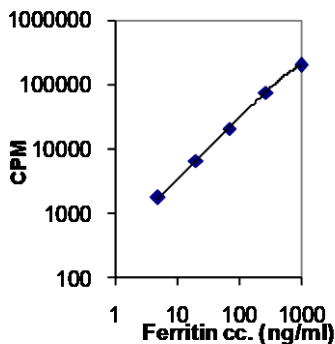
Egyes adat-kiértékelésekhez szükség lehet a specifikus kötési értékekre. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az S1 beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

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

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	261609		
S1	116	0,04	
S2	924	0,35	
S3	3241	1,24	
S4	11032	4,22	
S5	45032	17,21	
S6	129971	49,68	
C	12755		78,4



1. ábra  
Jellemző standard görbe

## Minőségi jellemzők

### Az assay jellemző paraméterei

NSB/T < 0,06%

B<sub>max</sub>/T > 40%

### Analitikai érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 10 párhuzamos mérésből meghatározva 0,6 ng/ml. Értéke egyenlő a 0-standard Bo+2\*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval, mely értéket S1 és S2 közt lineáris interpolációval számoltuk.

### 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, 20 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
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

### 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.

Átszámítás az SI mértékegységről:

1 nmol/l = 450 ng/ml

1 ng/ml = 2.22 pmol/l

## 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. 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.

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 alacsony!) mérési eredményekhez vezethet!

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélzerűbben 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 ismétlő 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.

A készletben lévő állati eredetű szérumot tartalmazó komponensek előállításához kizárólag egészséges állatokból nyert szérumokat használtunk fel.

Mindezek ellenére a humán ill az állati eredetű szérumot tartalmazó komponenseket tartalmazó reagenseket **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 reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

	Lejárati idő	<input type="text" value="LOT"/>	Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó	<input type="text" value="CONTROL"/>	Kontrol
	Lásd használati utasítás	<input type="text" value="CAL"/>	Standard
	In vitro diagnosztikai eszköz	<input type="text" value="CT"/>	Bevont cső
	Gyártó	<input type="text" value="TRAC"/>	Tracer
	Katalógus szám	<input type="text" value="WASHB"/>	Mosópuffer
	Radioaktív anyag		Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok
	Biológiai veszély		



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