

# T4-CTK

DiaSorin

## Radioimunoanalýza (RIA) pro kvantitativní stanovení celkového tyroxinu (T<sub>4</sub>) v lidském séru (systém potažených zkumavek)

REF	241-100	241-200
	100 stanovení	200 stanovení

DiaSorin S.p.A.  
Via Crescentino snc  
13040 Saluggia (VC)  
Italy

Servis  
Tel.: +39-0161-487-093  
Fax: +39-0161-487-628

## Uživatelská příručka pro T4-CTK

Datum: 19.02.2009

Tato verze nahrazuje všechny dřívější verze uživatelských příruček.

### Změny obsahu ve srovnání s předchozí verzí

- Nová verze



IVD



2-8°C

## Obsah soupravy

CONT	REF	241-100	REF	241-200	
		100 stanovení		200 stanovení	
A	Ag	1 x 28 mL < 1 x 168 kBq		2 x 28 mL < 2 x 168 kBq	
C	SORB	2 x 50		4 x 50	
W	BUF WASH 50x	1 x 11 mL		2 x 11 mL	
S0 – S5	CAL	6 x 0,7 mL		6 x 0,7 mL	
K1, K2	CONTROL	2 x 0,7 mL		2 x 0,7 mL	

**Indikátor**, jódem-125 značený roztok T<sub>3</sub> v pufru, červené barvy, připraven k použití.

**Potažené zkumavky**, potažené anti-T<sub>4</sub> protilátkou (polyklonální, ovčí), připraveno k použití.

**Promývací univerzální roztok**, koncentrovaný.

**T<sub>4</sub> standardy** (lidské sérum), připraveno k použití, koncentrace: viz příložená příbalová informace pro kontrolu kvality.

**T<sub>4</sub> Kontrolní séra K1 a K2** (lidské sérum), připraveno k použití, koncentrace viz příloženou příbalovou informaci pro kontrolu kvality.

## Úvod

T4-CTK je kompetitivní imunoradiometrická analýza (RIA) pro kvantitativní stanovení celkového tyroxinu ( $T_4$ ) v lidském séru využitím technologie potažených zkumavek.

Během inkubační fáze kompetuje nezačtený antigen ze sérového vzorku nebo standardu s radioaktivně značeným antigenem (indikátorem) pro vazebná místa antigeně specifické protilátky na vnitřním povrchu zkumavek.

Koncentrace indikátoru (relativní přebytek) a koncentrace protilátky (relativní nedostatek) je stejná ve všech zkumavkách. Koncentrace nezačteného antigenu  $T_4$  (standardy a vzorky sér pacientů) je tudíž jedinou proměnnou v systému.

## Důležité poznámky

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu (např. lidské sérum). Tyto materiály byly testovány na přítomnost HBsAg, HIV I/II protilátek a HCV protilátek použitím schválených testovacích souprav. Všechny testy byly negativní. Přesto je nutné s čidly a vzorky od pacientů zacházet opatrně, protože všechny materiály lidského původu jsou potenciálně nebezpečné.

Tento produkt obsahuje radionuklid jód-125 ve formě otevřené radioaktivní látky. Ionizující záření ve formě fotonového záření je emitováno energií přibližně 30 keV. Poločas rozpadu je 60 dní. Tento produkt je nutno uchovávat chráněný a zabezpečený proti ztrátě. Musí se likvidovat jako radioaktivní odpad.

Pro zajištění přiměřené ochrany před zářením se musí zamezit proniknutí radioaktivních látek do organismu. Pracovní místnosti se musí větrat. Je zakázáno jíst, pít a kouřit. Při práci je nutno používat zástěru a ochranné rukavice. Zamezte zbytečnému setrvávání v blízkosti zdrojů záření. Doporučuje se vypočítat osobní dávku použitím vhodných měřicích zařízení, např. filmových dozimetrů.

## Standardizace a referenční rozsahy

Pro T4-CTK je referenční rozsah pro zdravé štítné žlázy 58-154 nmol  $T_4$ /L séra.

Do úvahy se musí vzít zejména závislost sérových hladin  $T_4$  na vazebních proteinech (zejména TBG).

“Normální” hladiny  $T_4$  nutně nevyklučují hypertyreózu (izolovaná hypertyreóza  $T_3$ ) kvůli výskytu tyreotoxikózy  $T_3$ .

Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila vlastní referenční rozsahy na reprezentativním vzorku pacientů a/nebo provedla test validity dat komerčně dostupné testovací soupravy výrobce. Kontroly obsažené v soupravě musí například být použity pro každou dávku a výsledky musí ležet v přijatelném rozsahu, který je uvedený v příbalové informaci pro kontrolu kvality. Toto umožní identifikaci lokálních vlastností a variací při prevalenci určitých nemocí štítné žlázy a dysfunkcí, a rovněž poslouží jako test metodologické kvality jednotlivých laboratoří a testovacích souprav. Údaje poskytnuté pro T4-CTK by proto měly být považovány za orientační.

**Kontrola jakosti:** Musí se dodržet národní předpisy na zajištění jakosti pro kvantitativní testy ve zdravotnické laboratoři (současná verze). Například, správnost a přesnost testu lze monitorovat pomocí laboratorních kontrolních materiálů v rámci vlastního pracoviště a/nebo použitím komerčně dostupných kontrolních materiálů. Při získání neakceptovatelných kontrolních hodnot postupujte tak, jak je uvedeno ve standardních laboratorních diagnostických postupech pro určení příčiny, a implementujte nápravná opatření.

Vysoká koncentrace nezačteného antigenu ve vzorku vede ke snížení vazby kompetičních molekul indikátoru na protilátku. To znamená, že množství radioaktivity navázané na stěny zkumavek bude nepřímě úměrné požadované koncentraci  $T_4$  v příslušném vzorku.

Po dokončení reakce se část indikátoru nenavázaného na vnitřní povrch zkumavky odstraní dekantováním tekuté fáze a zbylá radioaktivita ve zkumavce se změří detektorem gama záření.

Na základě použitých standardů (známých koncentrací nezačteného antigenu) se určí profil koncentrace radioaktivity (standardní křivka). Z této křivky lze stanovit koncentraci antigenu patientských sér na základě jejich radioaktivity.

Příjem, nabytí, držení, použití a přeprava radioaktivního materiálu podléhá specifickým normám každé země.

Následující čidla soupravy obsahují konzervační látku azid sodný v koncentracích < 0,1 hmotnostních procent: indikátor A, standardy a kontroly. Tato čidla se nesmí požívat a je třeba zabránit kontaktu s kůží nebo sliznicemi.

V případě, že souprava s čidly obsahuje skleněné lahvičky, výslovně zdůrazňujeme, že u nich existuje riziko rozbití a následného poranění.

Čidla a odpad vznikající při testu je nutno likvidovat v souladu se specifikacemi místních orgánů.

Výsledky získané z této analýzy se musí vždy vyhodnotit v kombinaci s klinickým vyšetřením, anamnézou pacienta a ostatními nálezy ještě před provedením závažných opatření.

## Literatura

1. M.M. Kaplan: Assessment of Thyroid Function During Pregnancy. *Thyroid* 2 (1): 57-61 (1992)
2. J.H. Keffer: Preanalytical considerations in testing thyroid function. *Clin.Chem.* 42 (1): 125-134 (1996)
3. G.G. Klee: Clinical usage recommendations and analytic performance goals for total and free triiodothyronine measurements. *Clin.Chem.* 42 (1):155-159 (1996)
4. G. Lindstedt, G. Berg, S. Jansson, O. Törring, S. Valdemarsson, B. Warin, E. Nyström: Clinical Use of Laboratory Thyroid Tests and Investigations. *JIFCC.* 6 (4): 136-141 (1994)
5. J.C. Nelson and R. B. Wilcox: Analytical performance of free and total thyroxine assays. *Clin.Chem.* 42 (1);146-154 (1996)
6. E.C. Ridgway: Modern concepts of primary thyroid gland failure. *Clin.Chem.* 42 (1): 179-182 (1996)
7. C.A. Spencer: The comparative Clinical Value of Free  $T_4$  Estimation Using Different Methodological Approaches. *NucCompact.* 16: 321 – 327 (1985)
8. G.H. White: Recent advances in routine thyroid function testing. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences.* 24 : 315-362 (1987)

## Stabilita a skladovací podmínky

Všechna činidla a potažené zkumavky uchovávejte až do doby použití při teplotě 2 až 8°C v původních přepravních obalech. Dodržte doby použitelnosti uvedené na hlavním obalu a na štítcích lahviček. Doba použitelnosti soupravy je určena dobou použitelnosti indikátoru.

## Postup testu

### Schéma inkubace

1. Očísľujte	potažené zkumavky (a, b)	T	0	1- 5	6 atd.
2. Napipetujte	nulový standard	$\mu\text{L}$	–	50	–
	standardy	$\mu\text{L}$	–	–	50
	pacientská séra	$\mu\text{L}$	–	–	50
3. Napipetujte	indikátor (připraveno k použití)	$\mu\text{L}$	250	250	250
4. Inkubujte		–	<b>1 h <math>\pm</math> 15 min při pokojové teplotě (18-25°C) na horizontální třepačce (170-250 ot/min)</b>		
5. Aspirujte nebo dekantujte		–	Pomocí odsávacího zařízení odsajte dosucha nebo dekantujte a nechejte odkapat na savý papír.		
6. Napipetujte promývací roztok	mL	–	2	2	2
7. Opakujte krok 5		–			
8. Změřte radioaktivitu (doporučený čas odečtu: 1 min)					

Výpočet výsledků

### Manipulace se vzorky

Sražená, lipemická, hemolytická, ikterická nebo kontaminovaná séra se nesmí používat.

Doporučuje se použít sérum. Pokud se použije plazma, musí se vytvořit samostatné referenční hodnoty.

Pokud vzorky séra nejsou analyzovány bezprostředně po přípravě, lze je uchovávat 3 dny při teplotě 2-8°C nebo déle při teplotě –20°C. Musí se zamezit opakovanému zmražení a rozmražení.

### Poznámky k provedení testu

Nepoužívejte žádná činidla po uplynutí doby použitelnosti vytištěné na štítku.

Jednotlivé komponenty soupravy jsou dokonale vzájemně sladěny. Pokud se zamění nebo smíchají komponenty z různých šarží, společnost DiaSorin S.p.A. nenes žádnou odpovědnost za přesnost výsledků. Promývací roztok lze běžně zaměňovat mezi soupravami T3-CTK, T4-CTK, ft4-CTK, TSH-CTK a Tg-CTK.

Ve větších testovacích sériích se činidla se stejným označením šarže kombinují.

Je nutné dodržet vyznačenou posloupnost jednotlivých kroků.

Vzorky pacientů o koncentraci vyšší než je měřicí rozsah se musí označit jako "> nejvyšší standard". Výsledek se nesmí extrapolovat. Příslušný vzorek pacienta se musí zředit a znovu otestovat. Další informace lze získat v oddělení zákaznických služeb společnosti DiaSorin S.p.A.

**Naředěný promývací roztok** lze použít do 4 týdnů, pokud byl uchováván při teplotě 2-8°C. Kontaminovaný promývací roztok se nesmí používat. Jedná se o případ, kdy je tekutina kalná nebo hodnota pH je < 6.

**Vzhledem k fotosenzitivě jódotyrimů je třeba zabránit přímé expozici slunečnímu světlu během jejich radioimunologického stanovení v séru.**

### Postup testu

- Příprava**
    - Všechny komponenty soupravy a vzorky pacienta nechte zahřát na pokojovou teplotu.
    - Všechna tekutá činidla - včetně sér pacientů - před použitím lehce zamíchejte (zabraňte tvorby pěny).
    - Očísľujte potažené zkumavky (pokud možno použitím a, b pro duplikáty). Nepotažené zkumavky (T a, b) slouží pro měření celkové radioaktivity.
    - Připravte promývací roztok: naředte 11 mL koncentrátu s destilovanou vodou pro získání 550 mL. Před použitím jiných promývacích roztoků důrazně doporučujeme nejdříve kontaktovat výrobce nebo distributora.
  - Do každé testovací zkumavky 0 a, b ... 5 a, b, napipetujte **50  $\mu\text{L}$  standardu** se vzestupnými koncentracemi T4; do každé testovací zkumavky 6 a, b, atd., napipetujte **50  $\mu\text{L}$  kontrolního séra nebo 50  $\mu\text{L}$  séra pacienta**.  
Pro každý vzorek se musí použít nová plastová špička mikropipety, aby se zamezilo přenosu jednoho vzorku na další.
  - Do každé zkumavky, včetně T a, b napipetujte **250  $\mu\text{L}$  indikátoru (připravený k použití)**. Zkumavky T a, b ponechte bez dalšího zpracování až do změření radioaktivity (viz krok 8).
  - Zkumavky krátce zamíchejte na mixéru vzorků, přikryjte adhezivní fólií a **inkubujte na horizontální rotační třepačce (170-250 ot/min) po dobu 1 hodiny  $\pm$  15 minut při pokojové teplotě (18-25°C)**.
  - Dekantujte zkumavky (kromě T a, b) do sucha nebo odsajte použitím odsávacího přístroje. Odsajte/dekantujte zkumavky/stojany ve stejném pořadí, v jakém se přidával indikátor!
  - Do všech zkumavek (kromě T a, b) přidejte **2 mL promývacího roztoku**.
  - Poté opakujte krok 5. Promytí celkem: 1
- Poznámka** Pokud dáváte přednost dekantaci, umožněte odstranění zbytku tekutiny (zkumavky obraťte dnem vzhůru na sací papír alespoň 2 až 5 minut a umožněte odstranění kapiček).
- Změřte radioaktivitu každé zkumavky včetně T a, b. **Doporučený čas odečtu: 1 minuta.**

**Pečlivě dodržujte pokyny výrobce.** Nesprávná manipulace s činidly může zkreslit výsledky testu. Společnost DiaSorin S.p.A. nepřijímá odpovědnost za chybné výsledky testu vyplývající z nesprávného skladování, používání nebo manipulace.

### Dodatečně požadováno

- mikropipety (50, 250  $\mu\text{L}$ )
- dávkovač (2,0 mL)
- mixér vzorků (např. míchačka vortex)
- třepačka s kruhovým pohybem
- detektor záření gama

## Výpočet výsledků

Pro počítačové vyhodnocení T4-CTK je třeba vybrat hodnotící program (spline/unsmoothed), který vyhovuje specifické kombinaci procesoru a použitého měřicího zařízení.

Při vyhodnocování výsledků testů T4-CTK bez použití počítače se musí průměrná četnost pulsů každého vzorku (B) vztáhnout k průměrné četnosti pulsů nulového standardu (B<sub>0</sub>) a vyjádřit procentuálně jako B/B<sub>0</sub>.

Pro nulový standard platí: B/B<sub>0</sub> = 100%.

Na semilogaritmický milimetrový papír se vynesou standardní křivka z vypočítaných procentních hodnot B/B<sub>0</sub> standardů (druhá souřadnice, lineární) vůči odpovídající koncentraci T<sub>4</sub> (první souřadnice, logaritmická).

T<sub>4</sub> obsah neznámých sér lze odečíst přímo v nmol/L (ng/mL) ze standardní křivky na základě odpovídajících procentních hodnot B/B<sub>0</sub>.

**Převodní faktor: nmol/L = ng/mL x 1,287**

Vazebná kapacita stanovení se ověří vypočítáním B<sub>0</sub>/T:

$$\frac{B_0}{T} (\%) = \frac{\text{průměrná četnost pulsů } 0 \text{ a, b}}{\text{průměrná četnost pulsů } T \text{ a, b}} \times 100$$

Ohledně technické podpory kontaktujte prosím zákaznický servis společnosti DiaSorin S.p.A. nebo příslušného distribučního partnera / obchodního zástupce.

## Charakteristiky testu

### - Rozsah měření

T4-CTK poskytuje rozsah měření sérových koncentrací 0-512 nmol/L.

### - Senzitivita

Spodní limit detekce T4-CTK je nižší než 12,8 nmol/L.

Tento limit detekce je definován jako tři standardní odchylky nad nulovým standardem. Jedná se o nejnižší staticky významnou koncentraci T<sub>4</sub>, kterou lze ještě odlišit od nuly.

### - Přesnost v rámci testů

Pro srovnání v rámci testů se provedlo 14 stanovení při různých koncentracích T<sub>4</sub>. Získané výsledky jsou shrnuty v *tabulce 1*.

*Tabulka 1:*

Přesnost v rámci testů		
Průměr [nmol/L]	Standardní odchylka [nmol/L]	Variační koeficient (%)
37	2,16	5,8
93	2,6	2,8
183	6,2	3,4

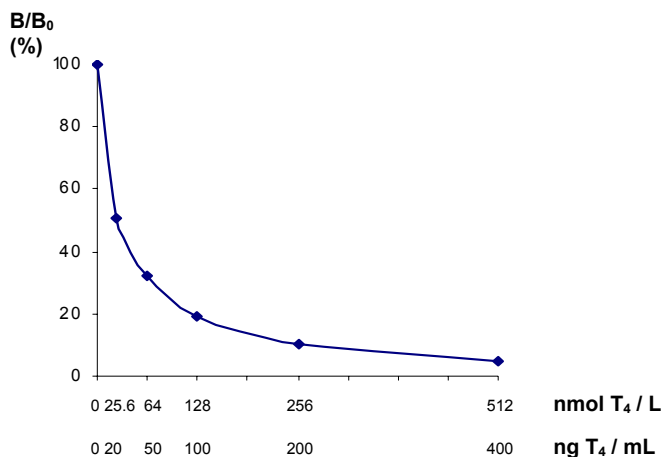
### - Přesnost mezi testy

Mezilehlá přesnost byla stanovena pomocí lyofilizovaného kontrolního materiálu z různých sérií za období 52 dnů. Stanovené hodnoty jsou shrnuty v *tabulce 2*.

## Příklady výpočtu

Zkumavky	cpm (a)	cpm (b)	cpm (průměr)	B/B <sub>0</sub> (%)
Celková aktivita T	54 691	54 089	54 390	–
Nulový standard 0	22 587	22 885	22 736	100
Standard 1 [25,6 nmol/L]	11 707	11 512	11 609	51
Standard 2 [64 nmol/L]	7 284	7 070	7 177	32
Standard 3 [128 nmol/L]	4 206	4 310	4 258	19
Standard 4 [256 nmol/L]	2 390	2 338	2 364	10
Standard 5 [512 nmol/L]	1 315	1 285	1 300	5
Vzorek pacienta 6	5 231	5 399	5 315	23

## Standardní křivka



*Tabulka 2:*

Přesnost mezi testy		
Průměr [nmol/L]	Standardní odchylka [nmol/L]	Variační koeficient (%)
36	2,4	6,7
100	5,1	5,1
185	7,8	4,2

### - Specifita

Zkřížené reaktivity protilátky tyroxinu použité u různých látek jsou následující:

L-T <sub>2</sub>	<< 0,2%
D-T <sub>3</sub>	0,5%
L-T <sub>3</sub>	< 0,2%
D-T <sub>4</sub>	63%
r-T <sub>3</sub>	5%
Kyselina trijodtyroninová	0,5%

U následujících látek nebyla zjištěna žádná zkřížená reakce v rozsahu fyziologických koncentrací:

L-tyrosin
Salicylan sodný
Fenylbutazon
Difenyl hydantoin
Kyselina acetylsalicylová (aspirin)
Amiodaron
Anilino-sulfonová kyselina