

# ft4-CTK

DiaSorin

## Imunoradiometrická analýza (SPART) pro kvantitativní stanovení volného tyroxinu (FT<sub>4</sub>) v lidském séru (systém potažených zkumavek)

REF	246-100	246-200
	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 ft4-CTK

Datum: 19.02.2009

Tato verze nahrazuje všechny dřívější verze uživatelských příruček.

Změny obsahu ve srovnání s předchozí verzí

- Nová verze



2-8°C

## Obsah soupravy

CONT	REF	246-100	REF	246-200	
		100 stanovení		200 stanovení	
A	Ab	1 x 55 mL < 1 x 150 kBq		2 x 55 mL < 2 x 150 kBq	<b>Indikátor</b> , jódem- <sup>125</sup> značená anti-T <sub>4</sub> protilátka (monoklonální, myší), červené barvy, připraveno k použití.
C	SORB	2 x 50		4 x 50	<b>Potažené zkumavky</b> , potažené tyroxinem, připraveno k použití.
W	BUF WASH 50x	1 x 11 mL		2 x 11 mL	<b>Promývací univerzální roztok</b> , koncentrovaný.
S0 – S6	CAL	7 x 0,5 mL		7 x 0,5 mL	<b>FT<sub>4</sub> standardy</b> (lidské sérum), připraveno k použití, přesné koncentrace viz příloženou příbalovou informaci.
K1 – K3	CONTROL	3 x 0,5 mL		3 x 0,5 mL	<b>FT<sub>4</sub> kontrolní séra K1, K2 a K3</b> (lidské sérum), připraveno k použití, koncentrace viz příloženou příbalovou informaci pro kontrolu kvality.

## Úvod

FT<sub>4</sub>-CTK je **jednostupňová**, heterogenně-fázová kompetitivní radioimunoanalýza (RIA), která používá technologii potažené zkumavky ke kvantitativnímu stanovení volného tyroxinu (FT<sub>4</sub>) v lidském séru.

FT<sub>4</sub> ve vzorcích lidského séra nebo standardech kompetuje s tyroxinem imobilizovaným v potažené zkumavce pro vazebná místa na vysoce specifickou monoklonální protilátku anti-T<sub>4</sub>. Protilátka (indikátor) se radioaktivně označí jódem-<sup>125</sup>. Čím vyšší je koncentrace tyroxinu ve vzorku, tím nižší je počet značených protilátek, které se vážou s imobilizovaným tyroxinem. Radioaktivita v potažené zkumavce je tudíž nepřímo úměrná koncentraci tyroxinu ve vzorku pacienta.

## 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. Všechny testy byly negativní. Přesto je nutné s činidly a vzorky od pacientů zacházet opatrně, protože všechny materiály lidského původu jsou potenciálně nebezpečné.

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

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 měřících zařízení, např. filmových dozimetrů.

## Standardizace a referenční rozsahy

Eutyreóza	10-25 pmol/L	7,8-19,4 pg/mL
Hypotyreóza	< 8 pmol/L	< 6,2 pg/mL
Hypertyreóza	> 30 pmol/L	> 23,3 pg/mL

Signifikantně zvýšené úrovně FT<sub>4</sub> lze pozorovat u pacientů na levotyroxinu, zejména u terapie velmi vysokými dávkami (> 200 µg/den). Při interpretaci těchto hodnot FT<sub>4</sub> je důležité pamatovat, že se lék obvykle bere několik hodin před odběrem krevních vzorků, tj. test se provádí během absorpční fáze.

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. 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 analýzu FT<sub>4</sub>-CTK mají proto pouze orientační charakter.

**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. 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. Při získání neakceptovatelných kontrolních hodnot postupujte tak, jak je uvedeno ve standardních laboratorních

Po skončení reakce se volná frakce indikátoru oddělí od frakce navázané na zkumavku (B) aspirací nebo dekantací tekuté fáze. Následně se změní radioaktivita frakce navázané na zkumavku. Po změření radioaktivity standardů se známou koncentrací antigenu se za identických testovacích podmínek vygeneruje profil standardní radioaktivity vs. koncentrace (standardní křivka). Neznámou koncentraci FT<sub>4</sub> každého patientského vzorku lze pak určit vztahem naměřené radioaktivity ve vzorku ke známé hodnotě na standardní křivce.

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

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

Činidla a odpad vzniklý při analýze 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.

diagnostických postupech pro určení příčiny, a implementujte nápravná opatření.

## Literatura

1. Nelson, J.C., Wilcox R.B.: Analytical performance of free and total thyroxine assays. Clin.Chem. 42 (1); 146-154 (1996)
2. Wenzel K.W.: Schilddrüsenfunktionstests und Medikamente. MMW 138 (40); 658-661 (1996)
3. Stockigt J.R., Lim C.F., Barlow J.W., Topliss D.J.: Drug-induced disturbances of in vitro thyroid testing: Effects of Circulating Competitors for protein binding. Exp. Clin. Endocrinol. 102; 110-116 (1994)
4. Nelson, J.C., Wilcox R.B.: Protein Bound T4 Dependence: the uncontrolled variable in free T4 assays. Exp. Clin. Endocrinol 102 (1); 102-109 (1994)
5. Litaka M., Kawasaki S., Sakurai S., Hara Y., Kuriyama R., Yamanaka K., Kitahama S., Miura S., Kawakami Y., Katayama S.: Serum substances that interfere with thyroid hormone assays in patients with chronic renal failure. Clinical Endocrinology 48; 739-746 (1998)

## Postup testu

### Schéma inkubace

1. Očísľujte	potazené zkusavky (a, b)	T	0	1-6	7 atd.
2. Napipetujte	nulový standard	µL	–	50	–
	standards	µL	–	–	50
	vzorky séra	µL	–	–	50
3. Napipetujte	indikátor A (připraveno k použití)	µL	500	500	500
4. Inkubujte		–	2 hodiny ± 15 minut při pokojové teplotě (17-27°C) za současného protřepávání (170-250 ot/min)		
5. Aspirujte nebo dekantujte		–	Supernatant zcela aspirujte nebo dekantujte a nechejte odkapat na savý papír.		
6. Napipetujte	promývací roztok	mL	–	2	2
7. Opakujte krok 5		–			
8. Změřte radioaktivitu (doporučený čas odečtu: 1 min)					

### Manipulace se vzorky

Pokud vzorky séra nejsou analyzovány okamžitě, lze je uchovávat 3 dny při teplotě 2-8°C nebo déle při teplotě -20°C. Všechny vzorky se musí uchovávat v uzavřených lahvičkách. Zabraňte opakovanému zmrazení a rozmrazení.

Doporučujeme použít sérum! Pokud se k měření použije plazma, výsledky by se mohly zvýšit, v závislosti na druhu a koncentraci antikoagulantu, případně vést k falešně pozitivnímu výsledku. Pokud je k dispozici pouze plazma coby vzorek, je nutno vytvořit vlastní referenční rozsah.

Bilirubin a hemolýza nemají žádný vliv na výsledky testu.

### Poznámky k provedení testu

Nepoužívejte žádná činidla po uplynutí doby použitelnosti vtištěné na štítku.

Jednotlivé komponenty soupravy jsou dokonale vzájemně sladěny. Pokud se zamění nebo smíchají komponenty z různých šarží, společnost DiaSorin S.p.A. nenesie 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 měřicí rozsah se musí označit jako "> nevyšší standard". Výsledek se nesmí extrapolovat. Příslušný vzorek pacienta by měl být zředit a znovu otestován. Další informace můžete získat od zákaznického oddělení společnosti DiaSorin S.p.A..

## Stabilita a skladovací podmínky

Všechna činidla a potazené zkusavky 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. Během uchovávání indikátoru při teplotě 2-8°C může docházet k tvorbě krystalů na dně lahvičky. Toto však s největší pravděpodobností nebude mít žádný negativní

## Postup testu

1. Příprava
  - Všechny komponenty soupravy a vzorky pacientů nechte zahřát na pokojovou teplotu.
  - Všechna tekutá činidla - včetně sér pacientů - před použitím lehce zamíchejte (zabraňte tvorby pěny).
  - Očísľujte potazené zkusavky (pokud možno použitím a, b pro duplikáty). Nepotazené zkusavky (T a, b) slouží pro měření celkové radioaktivity.
  - Připravte promývací roztok: naředte 11 mL koncentráty s destilovanou vodou pro získání 550 mL. Před použitím jiných promývacích roztoků důrazně doporučujeme nejdříve kontaktovat výrobce nebo distributora.
2. Do zkusavek 0 a, b až 6 a, b napipetujte **50 µL každého standardu** se stoupajícími pořadími koncentrací FT<sub>4</sub>. Do zkusavek 7 a, b, atd. napipetujte **50 µL každého vzorku pacienta nebo 50 µL kontrolního séra**.  
Každý vzorek by se měl pipetovat použitím čerstvé plastové špičky mikropipety, aby se zamezilo přenosu jednoho vzorku na další.
3. Do každé zkusavky, včetně T a, b, napipetujte **500 µL indikátoru A (připraveno k použití)**. Zkusavky T a, b jsou nyní ponechány odděleně až do změření radioaktivity (viz bod 8).
4. Zkusavky krátce protřepejte na vibrační třepačce, přikryjte adhezivní fólií a **inkubujte 2 hodiny při pokojové teplotě (17-27°C) za současného protřepávání (170-250 ot/min)**.

**Poznámka** Stojany se zkusavkami nikdy nestavte na sebe, aby se zajistila stejná distribuce teploty v rotační třepačce.

5. Roztok ze všech zkusavek (kromě T a, b) zcela **aspirujte nebo dekantujte**. Aspirujte nebo dekantujte zkusavky nebo stojany ve stejném pořadí, ve kterém se přidával indikátor.
6. Do všech zkusavek (kromě T a, b) napipetujte **2 mL promývacího roztoku**.
7. Poté opakujte krok 5.

**Poznámka** Pokud dáváte přednost dekantaci, umožněte odstranění zbytku tekutiny (zkusavky obraťte dnem vzhůru na sací papír alespoň na 5 minut a umožněte odstranění kapiček).

8. Pomocí detektoru záření gama změřte radioaktivitu každé zkusavky (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

- dávkovač (2,0 mL)
- mikropipety (50, 500 µL)
- míchadlo na vzorky
- horizontální rotační třepačka
- odměrný válec (300 mL)
- detektor záření gama

dopad na výsledek testu, protože se krystaly při pokojové teplotě rozpustí.

**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.

## Charakteristiky testu

### • Přesnost v rámci testů

Hodnoty pacientů uvedené níže byly určeny jako průměr 20 stanovení v jedné sérii analýzy.

Pacient	Průměr [pmol/L]	Standardní odchylka [pmol/L]	Variační koeficient (%)
1	11,0	0,61	5,5
2	20,6	0,70	3,4
3	101,5	3,7	3,6

### • Přesnost mezi testy

Hodnoty pacientů uvedené níže byly určeny v opakovacích zkouškách při 10 stanoveních.

Pacient	Průměr [pmol/L]	Standardní odchylka [pmol/L]	Variační koeficient (%)
1	8,0	0,70	8,7
2	17,6	0,90	5,1
3	51,0	1,5	3,0

## Výpočet výsledků

Pro počítačové vyhodnocení FT<sub>4</sub>-CTK je třeba vybrat hodnotící program (spline/unsmoothed), který vyhovuje specifické kombinaci procesoru a použitého měřicího zařízení.

Při vyhodnocování výsledků FT<sub>4</sub>-CTK bez použití počítače se musí průměrná četnost pulsů každého vzorku (B) vztáhnout k průměrné četnosti pulsů nulového standardu (B<sub>0</sub>) a vynést na lineární logaritmický milimetrový papír. Výsledek je procentní hodnota vyjádřena poměrem B/B<sub>0</sub> (%).

V případě nulového standardu B/B<sub>0</sub> = 100%.

Standardní křivka se vygeneruje vnesením průměrné procentní hodnoty každého standardu (druhá souřadnice, lineární) jako funkce koncentrace FT<sub>4</sub> (první souřadnice, logaritmická). Neznámé koncentrace FT<sub>4</sub> (pmol/L nebo pg/mL) patientského séra lze pak určit vztážením průměrných procentních hodnot B/B<sub>0</sub> ke známým hodnotám na standardní křivce.

**Převodní faktor: pmol/L x 0,777 = pg/mL**

Pro stanovení vazebné kapacity protilátky FT<sub>4</sub> se vypočítá poměr průměrné četnosti nulového standardu (B<sub>0</sub>) a celkové aktivity (T):

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

Za daných podmínek analýzy by se měl poměr B<sub>0</sub>/T pohybovat v rozmezí 25 až 50%.

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

### • Senzitivita

Analytická senzitivita odvozena z optimální křivky je **1,25 pmol/mL**. Tato hodnota se vypočítala jako průměr 40 stanovení nulového standardu použitím následujícího vzorce:  $x$  (cpm) – 2 s odchylka v cpm (počet odčítacích impulzů za minutu).

Senzitivita *funkční* analýzy (20% variační koeficient mezitesty) je **2,6 pmol/mL**.

### • Zkřížená reaktivita

Látka	Zkřížená reaktivita v %
3,3', 5'-triiodo-L-tyronin	0,6
L-diiodotyrosin	< 0,001
L-monoiodotyrosin	0,003
L-tyronin	< 0,001
L-tyrosin	< 0,001
3', 5'- diiodo-L-tyronin	< 0,01
3,5- diiodo-L-tyronin	0,008
Etyl 2-(4-chlorofenoxy)-2 metylpropionát	< 0,001
Kyselina anilinaftalensulfonová	< 0,001

### Příklad výpočtu

Zkumavky	CPM (a)	CPM (b)	CPM (průměr)	B/B <sub>0</sub> (%)
Celková aktivita T	63 754	64 395	64 075	–
Nulový standard	28 666	28 628	28 647	100
Standard 1 [1,9 pmol/L]	26 399	25 892	26 146	91,3
Standard 2 [4,5 pmol/L]	22 928	23 425	23 177	80,9
Standard 3 [10,3 pmol/L]	17 969	18 811	18 390	64,2
Standard 4 [24,5 pmol/L]	12 999	13 515	13 257	46,3
Standard 5 [71 pmol/L]	5 456	5 565	5 511	19,2
Standard 6 [142 pmol/L]	1 430	1 192	1 311	4,6
Vzorek 7 [22,1 pmol/L]	13 958	13 878	13 918	48,6

### Standardní křivka

