

FREE T4 (RIA)

کیت تشخیصی رادیوایمونومتریکی اسی تیروکسین آزاد (F.T4)

مقدمه:

هورمون T_4 یکی از مهمترین هورمون های ترشحی غده تیروئید می باشد که بر اساس تحریک این غده توسط هورمون تحریک کننده ترشح شده از هیپوفیز قدامی بنام TSH آزاد می شود. فرم فعال این هورمون که از نظر ایمنولوژیکی و بیولوژیکی اهمیت دارد فرم آزاد آن است که تنها میزان 0.3% را به خود اختصاص می دهد. مقدار کل هورمون تیروکسین T_4 TOTAL یک اندکسی از عملکرد غده تیروئید می باشد ولی باید در نظر داشت که عواملی همچون بارداری و مصرف قرص های ضد بارداری و استروئیدی بر میزان هورمون T_4 بطور کاذب اثر گذار هستند، بدین سبب اندازه گیری فرم آزاد که بی تأثیر از این عوامل هستند نتیجه بهتری از عملکرد این غده را در اختیار ما قرار می دهد.

اساس روش اندازه گیری:

کیت رادیوایمونومتریکی اسی سنجش FT_4 بر اساس ساندویچ رقابتی می باشد. در این آزمایش میان فرم آزاد T_4 نمونه و کالیبراتور برای اتصال به FT_4 کونژوگه آنتی سرم $COAT$ شده به لوله ها رقابت وجود دارد و زمانیکه $anti-T_4$ آنتی سرم در لوله ها فیکس شد بعد از آسپیراسیون بوسیله دستگاه گاما کانتر خوانده می شود. میزان فرم اکتیویته موجود در لوله با غلظت FT_4 نمونه رابطه معکوس دارد. استانداردهای FT_4 با غلظت مشخص همراه با نمونه های مجهول آزمایش می شوند که براساس منحنی استاندارد مقدار شمارش در مقابل غلظت FT_4 ، غلظت نمونه های مجهول بدست می آید.

محتویات کیت:

Kit Contents	Quantity (100T)
1. Coated Tubes Main : T_4 Antigen Coating solution : Tris buffer	100 Test Tubes
2. I 125 Tracer Main : Thyroxine(T_4) antigen Labelled with I 125 Diluent solution : PBS buffer Preservative : Kathon CG	30ml x I vial Radioactivity 74 KBq (Ready to use)
3. Standards : (Concentration: 0, 0.4, 0.85, 1.9, 5.0 ng/dl) Main : Thyroxine (T_4) in animal serum Diluent solution : BSA - PBS buffer Preservative : Kathon CG	0.5 ml x 5 vials (Ready to use)
4. Control Serum Concentration: 1.0-1.7 ng/dl (1) Diluent solution : BSA - PBS buffer Preservative : Kathon CG	0.5 ml x 1 vials (Ready to use)

نکات قابل توجه:

- در این کیت از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر $HBS AG$ و HIV منفی می باشند.
- از استفاده مواد بعد از تاریخ انقضاء خود داری فرمائید.
- از مخلوط کردن با کیت های تاریخ گذشته اجتناب ورزید.
- از لباس و دستکش یکبار مصرف برای کار با مواد رادیو اکتیو استفاده کنید.
- معرف ها باید قبل از مصرف به دمای اتاق یا محیط برسند.
- هرگز محلول کیت هایی که دارای LOT متفاوتی هستند با هم مخلوط نکنید.

تهیه و جمع آوری نمونه:

این تست را می توان مستقیماً بر روی نمونه های سرم انسانی یا پلاسما انجام داد ولی تأکید می شود که از انجام آزمایش بر روی نمونه های سرمی همولیز و لیپمیک و ایکتریک خودداری فرمائید. اگر قرار است آزمایش در طی ۲-۳ روز بعد انجام شود بهتر است در یخچال در دماهای ۲-۸ درجه سانتیگراد و برای اهداف طولانی مدت ۱۵-۱۰ روز باید در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شود. از انجماد و ذوب مکرر خودداری شود. برای جلوگیری از ایجاد واکنش های تداخل گر برای هر تست از یک سمپلر استفاده کنید معرف ها باید قبل از آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار بگیرند. نمونه هایی که فریز بوده اند باید بعد از ذوب شدن در دمای محیط توسط شیکر به صورت هموزن و یکنواخت درآیند. بهتر است که برای انجام آزمایش بصورت دوپل یا دوتایی استفاده شود و از میانگین آنها به جواب صحیح برسید.

محاسبه نتایج:

- با استفاده از میانگین شمارش استانداردها (Y) و غلظت مشخص آنها (X) بر روی کاغذ میلیمتری، منحنی استاندارد رسم کنید.
- میانگین شمارش برای هر نمونه را بدست آورید و روی محور Y جای آنرا پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی استاندارد وصل کنید. از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور X ها ایجاد می شود که بیانگر میزان غلظت نمونه است.

مقادیر طبیعی:

مقادیر طبیعی در سرم افراد نرمال که توسط آزمایش های مکرر به روش رادیو ایمونومتریکی اسی بدست آمده است به قرار زیر است:

محدوده طبیعی: 0.7-1.8 ng/dl

حساسیت:

حداقل غلظت سرمی قابل اندازه گیری با این روش در مقایسه با استاندارد 0 میزان 0.08 ng/dl است.

اختصاصی بودن:

در این تست علامت مشخصی از واکنش متقاطع بین میزان بالای $DL-M$ تیروزین و تری یدوتیروزین و ۳-۵ دی یدو ال تیروزین مشاهده نشد.

دقت:

برای ارزیابی دقت تست اعم از تکرارپذیری و تولید دوباره ($inter$ and $intra$ Assay) روی ۳ سرم با غلظت مشخص FT_4 انجام می شود.

Serum	Intra - assay			Inter - assay			Replicates
	Mean	S.D	C.V(%)	Mean	S.D	C.V(%)	
1	0.43	0.027	6.373	0.46	0.031	6.828	10
2	1.25	0.078	6.263	1.16	0.060	5.182	
3	3.45	0.164	4.781	3.29	0.152	4.636	

*C.V(%) = S.D of sample (ng/dl) / Mean of sample (ng/dl) x 100

برای تبدیل واحدها:

$$ng/ml \times 100 = ng/dl$$

$$ng/ml \times 1.536 = nmol/l$$

$$nmol/l \times 0.651 = ng/ml$$

نمودار استاندارد:

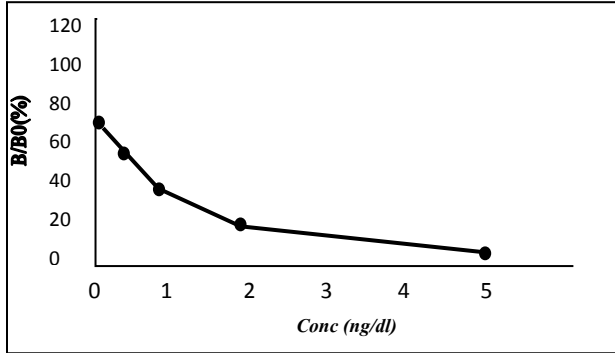
برای محاسبه درصد اتصال رادیو اکتیویته کنترل، استاندارد و نمونه ها از فرمول زیر محاسبه می شوند:

DESCRIPTION	CPM	Conc. (ng/dl)
Std A	66343	0 ng/dl
Std B	53893	0.4 ng/dl
Std C	36926	0.85 ng/dl
Std D	16947	1.9 ng/dl
Std E	3327	5 ng/dl
Control Serum 1	22517	1.39 ng/dl

$$B_0 / T(\%) = Std 0 cpm / total activity(cpm) \times 100$$

$$B/Bmax(\%) = Std or Sample (cpm) / B_0 \times 100$$

FreeT4 Standard Curve



ریکاروری:

برای انجام ریکاروری دو نمونه سرم با غلظت مشخص را به سه استاندارد مختلف (0.5 - 1.0 - 4.0 ng/dl) اضافه می کنیم.

دو نمونه سرم:

















حداقل غلظت 0.82 ng/dl و حداکثر غلظت 2.56 ng/dl

Added (ng/dl)	Expected Value (ng/dl)	Calculated Value (ng/dl)	Recovery(%)
0.82+0.5	1.32	1.36	103.03
0.82+1.0	1.82	1.89	103.84
0.82+4.0	4.82	4.78	99.17
2.56+0.5	3.06	2.99	97.71
2.56+1.0	3.56	3.48	97.75
2.56+4.0	6.56	6.65	101.52

*Recovery(%) = Calculated value (ng/dl) / Expected value (ng/dl) x 100

References :

- 1 Chopra I.J. -J. Clin. Invest. 54:583, 1974.
- 2 Chopra I.J., Sack J. and Fischer D.A. -J. Clin. Invest. 55:1137, 1975.
- 3 Meinhold M., Schurnbrand P. and K.W. Wenzel -Acta Endocrinol. Suppl. 199, 343, 1975.
- 4 Vagenakis A.G. et al. -J. Clin. Endocrinol. Metab. 41:191, 1975.
- 5 Janni A. et al. -«The low T3 syndrome» Academic Press, 1980.
- 6 Janni A. et al. -Atti del IV Simposio Internazionale delle Tecniche Radioisotopiche in vitro, Napoli 1977.
- 7 Osathanonda R. et al. -J. Clin. Endocrinol. Metab. 46:365, 1978.
- 8 Rolleri E. -Descrizione parametrica della curva dose-risposta. Giorn. It. Chim. Clin. 2 (1), 1-13-1977.
- 9 Rolleri E. et al. -Automatic treatment of radioimmunoassay data. The Journal of Nuclear Biology and Medicine. Vol. 17. n. 3. pag.128-141. 1973.

	Used by		Batch code
	Temperature limitation		Control
	Store between 2-8 °C		Standard
	Caution, consult accompanying documents		Coated Tube
	Biological risk		Tracer
	Consult instructions for use		Wash Buffer
	In vitro diagnostic medical device		Radioactive material
	Manufacturer		Catalogue number

آدرس کارخانه :

شهرک صنعتی اشتهارد - بلوار ابوریحان بیرونی - بلوار غزالی غربی - لادن ۲

- شرکت پادیاب طب

تلفن : ۰۲۶ - ۳۷۷۷۵۵۳۲-۹

فکس : 026 - 37775529

پشتیبانی فنی : ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸

دفتر مرکزی: تهران- ۲۴ متری سعادت آباد- خیابان یکم شرقی- خیابان

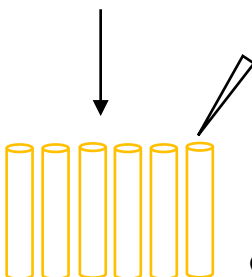
شب بو شرقی- پلاک ۱۷- طبقه ۲

آدرس اینترنتی : www.padyabteb.com

ایمیل شرکت : info@padyabteb.com



تخلیه محتویات لوله ها



شستشو با آب مقطر
به حجم 200 (۲ مرتبه)



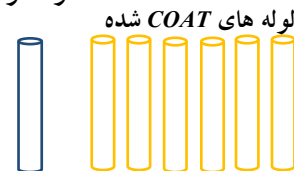
Gamma Counter Machine

۵ ابتدا محتویات لوله ها تخلیه بوسیله مکش یا معکوس کردن و سپس محتویات لوله ها را با 200 آب مقطر ، ۲ مرتبه شستشو می دهیم و با مکنده یا معکوس کردن و نگهداشتن به مدت ۲ دقیقه محتویات خالی می شوند. (به جز لوله توتال)

۶ با استفاده از دستگاه گاماکانتر ظرف مدت ۱ دقیقه اکتیویته موجود در لوله ها خوانده می شود.

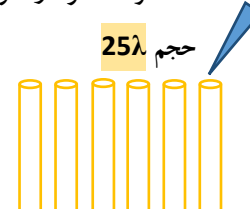
روش کار:

لوله توتال

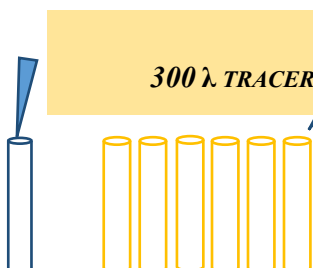


۱ تعداد لوله های کوت شده را برای استاندارد، کنترل و نمونه دوپل یا دوتایی قرار دهید. برای شمارش تام از لوله های معمولی استفاده می شود.

استاندارد، کنترل و نمونه

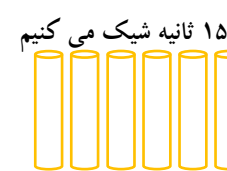


۲ 250 از استانداردها، کنترل و نمونه بیمار را به داخل هر لوله اضافه می کنیم.

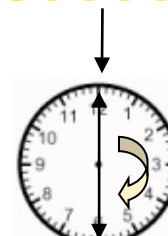


۳ 300 از ردیاب یا Tracer را به تمام لوله ها اضافه می کنیم.

نکته : برای مطمئن بودن از معتبر بودن TRACE باید لوله توتال را با 300 از محلول TRACER بوسیله دستگاه گاماکانتر محاسبه کنید تا توتال کانت نیز بدست آید.



۱۵ ثانیه شیک می کنیم



۴ حسابگیری : لوله ها را به آرامی به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده تا محتویات به خوبی مخلوط شوند و سپس لوله ها را به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق بر روی شیکر rpm200 انکوبه نمایید.

۳۰ دقیقه بر روی شیکر (200 rpm)