

# T4 (RIA)

## کیت تشخیصی رادیوایمونواسی تیروکسین

### مقدمه :

3.5.3.5 فرمول ساختمانی هورمون تیروکسین T4 می باشد. این هورمون یکی از اجزای تشکیل دهنده چرخه سیستم هورمونی تیروئید میباشد. این روش از صحت، حساسیت، تکرارپذیری، سرعت و اختصاصیت کافی برخوردار است. هورمون T4 تحت تأثیر محرکی از هیپوفیز قدامی بنام TSH که خود یک هورمون تحت تأثیر هورمون دیگری از غده هیپوتالاموس بنام TRH است، ترشح می شود. این هورمون به تنهایی در خون حمل نمی شود بلکه به یک حامل پروتئینی بنام تیروکسین باندینگ گلوبولین (TBG) نیاز دارد.

### اساس روش اندازه گیری :

کیت رادیوایمونواسی سنجش T4 بر اساس رقابتی می باشد. T4 موجود در نمونه ها برای اتصال به آنتی پلی کلونال خرگوشی COAT شده در انتهای لوله ها با T4 پد دار نشاندار شده H125 به رقابت می پردازد. پس از مدت زمان آنکوباسیون محتویات لوله دور ریخته شده و سپس توسط دستگاه گاما کانتر میزان مواد اکتیویته اندازه گیری می شود. میزان فرم اکتیویته موجود در لوله با غلظت T4 نمونه رابطه معکوس دارد. استانداردهای T4 با غلظت مشخص همراه با نمونه های مجهول آزمایش می شوند که براساس منحنی استاندارد مقدار شمارش در مقابل غلظت T4، غلظت نمونه های مجهول بدست می آید.

### محتویات کیت :

Kit Contents	Quantity (100T)
1. Coated Tubes Main: Thyroxine (T4) monoclonal antibody	100 Tubes (50EA/Rack×2)
2. I 125 Tracer Main: Thyroxine (T4) Antigen Labelled with I 125 Diluent solution : BSA – PBS buffer Preservative : Sodium Azide	20ml×1vial Radioactivity 185 KBq (Ready to use)
3. Standards : (Range: 0, 20 ,40 ,80 ,160 ,320 ng/ml) Main : Thyroxine (T4) in animal serum Diluent solution : BSA – PBS buffer Preservative : Sodium Azide	0.5 ml × 6 vials (Ready to use)
4. Control Serum Concentration: 25-45 ng/ml Diluent solution : 1% BSA Preservative : Sodium Azide	0.5 ml × 1 vials (Ready to use)

### نکات قابل توجه :

- 1- در این کیت از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر HBS AG و HIV منفی می باشند.
- 2- از استفاده مواد بعد از تاریخ انقضاء خود داری فرمائید.
- 3- از مخلوط کردن یا کیت های تاریخ گذشته اجتناب ورزید.
- 4- درب ظروف را بدرستی بر روی ویال خود ببندید.
- 5- از لباس و دستکش یکبار مصرف برای کار با مواد رادیو اکتیو استفاده کنید.
- 6- لوازم آزمایشگاهی آلوده به مواد رادیو اکتیویته را به وسیله روش های مراقبت در برابر اشعه و روش های ایمن شستشو و پسماند نمایید.
- 7- معرف ها باید قبل از مصرف به دمای اتاق یا محیط برسند.

### تهیه و جمع آوری نمونه :

این تست را میتوان مستقیم 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 ایکتریک و لیپمیک خود داری فرمائید. اگر قرار است آزمایش در طی 2-3 روز بعد انجام شود بهتر است در یخچال در دماهای 2-8 درجه سانتیگراد و اگر برای اهداف طولانی مدت 10-15 روز می باشد باید در دمای 20- درجه سانتیگراد نگهداری شود. مطمئن باشید که در نمونه پلاسما شما رشته های فیبرین وجود نداشته باشند چراکه وجود آنها سبب ایجاد تداخل در روند واکنشی آزمایش شده و جواب های کاذب را فراهم خواهد کرد برای رفع این مشکل حتما یک بار با اپلیکاتور به آرامی بهم زده و مجدداً سانتریفیوژ نمایید.

### محاسبه نتایج :

- 1- با استفاده از میانگین شمارش استانداردها (محور Y) و غلظت مشخص آنها (محور X) بر روی کاغذ میلیمتری ، منحنی استاندارد رسم کنید.
- 2- 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 رادیوایمونواسی بدست آمده است به قرار زیر است : محدوده طبیعی 45-125 ng/ml

### حساسیت :

حداقل غلظت سرمی قابل اندازه گیری با این روش در مقایسه با استاندارد صفر میزان 0.906 ng/ml است .

### اختصاصی بودن :

در این تست واکنش متقاطع (CROSS REATION) با غلظت بالای تری یدوتیرونین (T3) و 3-5 دی یدول تیرونین مشاهده نشده.

### دقت :

برای محاسبه میزان دقت در یک روز و روزهای متوالی 3 نمونه سرم را 20 مرتبه تکرار می کند.

### نمودار استاندارد :

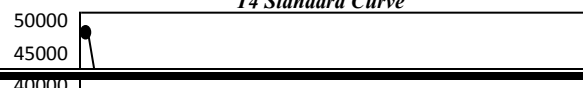
برای محاسبه درصد اتصال رادیو اکتیویته کنترل، استاندارد و نمونه ها از فرمول زیر محاسبه می شوند:

DESCRIPTION	CPM	B/B0 (%)	Conc .(mg/ml)
Total Activity	100000		
Std A	0 ng/ml 47000	100	
Std B	20ng/ml 42000	89.36	
Std C	40 ng/ml 36000	76.6	
Std D	80 ng/ml 28000	59.6	
Std E	160 ng/ml 18000	38.3	
Std F	320 ng/ml 9000	19.2	
Control Serum	25500	54.26	50

$$*B0/T = \text{Std } 0 \text{ cpm} / \text{Total activity(cpm)} \times 100$$

$$*B/B_{\text{max}}(\%) = \text{Std or sample (cpm)} / B0 \times 100$$

T4 Standard Curve



### روش کار :

لوله های COAT شده لوله توتال

0 50 100 150 200 250 300 350  
Conc. (ng/ml)

### توانایی تولید دوباره (inter assay):

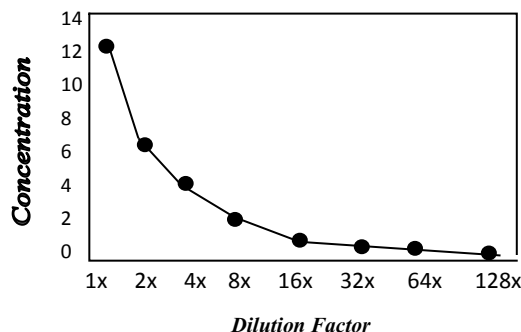
SERUM	MEAN±SD (ng/ml)	C.V(%)	Replicates
1	29.688 ± 1.983	6.681	10
2	74.4 ± 5.869	7.852	10
3	172.9 ± 11.99	6.936	10
















### توانایی تکرار پذیری (intra assay):

SERUM	MEAN±SD (ng/ml)	C.V(%)	Replicates
1	28.86 ± 2.279	7.897	10
2	74.95 ± 5.540	7.391	10
3	167.46 ± 7.530	4.496	10

### تست خطی بودن:

Diluted Portion	Conc. (ng/ml)
Undiluted	12.29
1:2	6.16
1:4	3.07
1:8	1.53
1:16	0.74
1:32	0.33
1:64	0.17
1:128	0.10



	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 2 - شرکت پادیاب طب

تلفن : 026 - 37775532 - 9

فکس : 026 - 37775529

پشتیبانی فنی : 09128930048

دفتر مرکزی: تهران - 24 متری سعادت آباد - خیابان یکم شرقی - خیابان

شب بو شرقی - پلاک 17 - طبقه 2

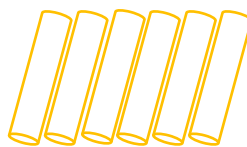
آدرس اینترنتی : [www.padyabteb.com](http://www.padyabteb.com)

ایمیل شرکت : [info@padyabteb.com](mailto:info@padyabteb.com)



شرکت پادیاب طب

تلفن سوالات فنی : ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸



تخلیه محتویات لوله ها

5 محتویات لوله ها را از

طریق وارونه کردن یا مکش

تخلیه کنید.

(به جز لوله توتال)

6 3 مرتبه شستشو با آب مقطر ترجیحاً استریل به حجم

2-3 میلی لیتر . 1 دقیقه منتظر مانده و سپس خوانش را انجام

دهید.

7 با استفاده از دستگاه

گاما کانتر ظرف مدت 1 دقیقه

اکتیویته موجود در لوله ها

خوانده می شود.



Gamma Counter Machine

برای تبدیل واحدها :

$$\text{ng/ml} \times 100 = \text{ng/dl}$$

$$\text{ng/ml} \times 1.536 = \text{nmol/l}$$

$$\text{nmol/l} \times 0.651 = \text{ng/ml}$$

References :

1 Chopra J. Clin Invest 54:583, 1974

2 Chopra J, Sack J and Fischer D.A. Clin Invest 55:1137, 1975



1 تعداد لوله های کوت

شده را برای استاندارد، کنترل و

نمونه دوبل یا دوتایی قرار دهید.

برای شمارش تام از لوله های

معمولی استفاده می شود.

استاندارد، کنترل و نمونه

2 25λ از استانداردها،

حجم 25λ

کنترل و نمونه بیمار را به داخل

هر لوله اضافه می کنیم.

(به جز لوله توتال)

حجم : 200λ Tracer

3 200 λ از ردیاب یا

Tracer را به تمام لوله ها

اضافه می کنیم.

15 ثانیه شیک می کنیم

4 حسابگیری : لوله ها را به

آرامی به مدت 15 ثانیه تکان داده

تا محتویات به خوبی مخلوط شوند

و سپس لوله ها را به مدت 30

دقیقه در حرارت اتاق بر روی

شیکر 200rpm انکوبه نمایید.



30 دقیقه بر روی شیکر 200 RPM