

9.3. METODA STANDARDNOG DODATKA

Ovaj test je izveden dodavanjem poznate količine T4 u serume triju različitih koncentracija T4. Rezultati određivanja koncentracije T4 u originalnom i opterećenom serumu prikazani su u tabeli:

T4 u serumu nmol/L	Dodato T4 nmol/L	Izmereno T4 nmol/L	Recovery %
250	47,4	328,6	110,5
62,5	47,4	118,4	109,9
12,6	47,4	61,5	97,6

9.4. LINEARNOST

T4 je odredivan u nerazblaženim serumima pacijenata, kao i u različitim razblaženjima istih seruma u odgovarajućem puferu.

Uzorak	Razblaženje	Očekivana konc. T4 nmol/L	Izmerena konc. T4 nmol/L
1.	/	/	66
	1/2	32	33
	1/4	14	16
	1/8	8	8
2.	/	/	143
	1/2	72	73
	1/4	36	37
	1/8	18	19
3.	/	/	277
	1/2	138	125
	1/4	69	65
	1/8	35	35

10. REFERENTNE VREDNOSTI

Na osnovu određivanja koncentracije T4 u serumu 63 zdrave osobe preporučujemo opseg normalnih koncentracija od 55-155 nmol/L. Donja granica referentnih vrednosti je 55 ± 10 nmol/L, a gornja iznosi 155 ± 15 nmol/L. Ukoliko se određivana vrednost T4 nalazi na granicama referentnih vrednosti preporučuje se poređenje sa drugim kliničkim i laboratorijskim nalazima, a po potrebi i ponovno određivanje T4. Zbog različitosti populacija i uslova rada svaka laboratorija bi trebalo da odredi sopstvene opsege referentnih vrednosti.

OKTOBAR 2009.
INEP-DIJAGNOSTIKA

INEP DIJAGNOSTIKA



Tel. 2612 743, 2618 666
Fax. 2618 724

UPUTSTVO ZA UPOTREBU

RIA T4 (PEG)



1. NAZIV I NAMENA TESTA

RIA T4 (PEG) je dijagnostički komplet namenjen kvantitativnom određivanju ukupnog tiroksina (T4) u serumu.

2. BIOHEMIJSKE I BIOLOŠKE KARAKTERISTIKE T4

Tireoidna žlezda sintetise glikoprotein velike molekulske mase - tireoglobulin, koji u svojoj strukturi sadrži trijodtironin (T3) i tiroksin. Oslobođanje tireoidnih hormona iz tireoglobulina i njihovo izlučivanje u krvotok regulisano je dejstvom tireotropnog hormona (TSH) i proteolitičkih enzima.

Kod zdravih osoba u krvotok se dnevno izlučuje oko 80 µg T4 i 5 µg T3. Skoro 99% izlučenih hormona vezuje se za transportne proteine: tiroksin-vezujući globulin (TBG), albumin (TBA) i prealbumin (TBPA). Manje od 1% tireoidnih hormona cirkuliše u slobodnom obliku. Vezivanje tireoidnih hormona za transportne proteine je povratna reakcija, pa se slobodni i vezani hormoni u zdravom organizmu nalaze u stalnoj ravnoteži.

Tiroksin se uglavnom vezuje za TBG. Prosečan nivo vezanog T4 je od 55 - 155 nmol/L. INEP-ov RIA T4 (PEG) predviđen je za određivanje ukupnog T4, odnosno zbira slobodnog i vezanog T4.

3. KLINIČKA PRIMENA

Određivanje serumskog T4 vrši se u principu uvek kada se pretpostavlja poremećaj u funkciji tireoideje. Određivanje T4 se preporučuje u sledećim slučajevima: dijagnoza svih oblika hipo i hipertireoza, za praćenje terapije svih oblika tireoidnih poremećaja, kod struma, u slučaju visokih vrednosti T3 kod tretiranih hipertireoza, kod recidivnog hipertireoidizma, kod endokrinih oftalmopatija, kod autonomnih adenoma itd.

Povećane vrednosti T4 mogu se očekivati kod: hipertireoza (sa i bez strume), kod autonomnih adenoma praćenih hipertireozom, zatim kod hipertireoza prouzrokovanih karcinomom tireoideje, kod hipertireoza prouzrokovanih tireoiditisom, kod hipertireoza usled aktivnosti TSH (npr. adenom hipofize). Normalne vrednosti T4, izuzev kod zdravih osoba, mogu se očekivati kod T3 hipertireoze ili usled velikih doza tireoidnih hormona pri terapiji. Smanjene vrednosti T4 mogu se javiti kod hipotireoza izazvanih resekcijom strume, terapijom radioaktivnim preparatom joda, pri ekstremnim nedostacima joda, zatim hipofiznom insuficijencijom i sl.

4. PRINCIP TESTA

Test se zasniva na kompetitivnom vezivanju serumskog T4 i radioaktivno obeleženog T4 za mali, ali određeni broj epitopa na specifičnim anti-T4 antitelima T4, pri čemu nastaju obeleženi i neobeleženi imunokompleksi. Obeleženog kompleksa formira se utoliko manje, ukoliko više ima serumskog T4. Posle završene reakcije svi nastali kompleksi se talože polietilenglikolom (PEG), dok slobodni T4 (obeleženi i neobeleženi), kao i slobodna antitela zaostaju u tečnoj fazi. Radioaktivnost taloga meri se odgovarajućim gamascintilacionim brojačem. Istovremeno sa uzorcima seruma tretiraju se i standardi, koji sadrže različite precizno definisane koncentracije T4, pomoću kojih se formira standardna kriva. Upoređivanjem sa standardnom krivom određuje se koncentracija T4 u uzorcima seruma.

5. SADRŽAJ KOMPLETA

Komplet za određivanje T4 sadrži sledeće komponente:

- ^{125}I -T4 u TRIS-HCl puferu pH 8,9, <150 KBq po bočici
 - Ovčiji anti-T4 antiserum T4 u TRIS-HCl puferu pH 8,9
 - Standardi T4: sedam bočica standarda
 - 20 % rastvor PEG-a u PBS puferu pH 8,9
 - Kontrolni serum - humani serumi precizno određene koncentracije T4
 - Kontrolni list sa podacima o testiranju komponenti kompleta
 - Uputstvo za upotrebu kompleta
- Sve komponente osim PEG-a su liofilizovane. Komplet treba čuvati na temperaturi od 4-8°C i po pravilu ga ne treba koristiti po isteku roka trajanja bilo koje od komponenti. Komplet je predviđen za 100 test-epruveta.

6. MERE OPREZNOSTI

- Radioaktivni materijal mogu primati, čuvati i koristiti samo ona fizička i pravna lica koja su za to ovlašćena na osnovu saveznih i republičkih zakona, propisa i ovlašćenja. INEP ne preuzima nikakvu odgovornost za neovlašćeno rukovanje radioaktivnim komponentama ovog kompleta.
- Sve komponente kompleta su provereno hepatitis B i HIV negativne.

7. NAČIN IZVOĐENJA TESTA

7.1 OPŠTE NAPOMENE

- Sve komponente, sem PEG-a, dovesti na sobnu temperaturu pre početka testa.
- Laboratorijsko posuđe koje se koristi za izvođenje testa mora biti besprekorno čisto.
- Serije uzoraka treba podesiti tako da dodavanje jedne komponente, od prve do poslednje epruvete, ne traje duže od 10 minuta.
- Jednom rastvorena komponenta može se čuvati u frižideru najduže 3 dana.
- Komponente testa ne izlagati sunčevoj svetlosti.

7.2. PRIPREMA UZORAKA SERUMA

Serumi pacijenata izdvajaju se na uobičajeni način. Nije neophodna posebna zaštita ili konzerviranje seruma. Ako se test izvodi unutar 24 h od trenutka uzimanja krvi, serume čuvati u frižideru. Ako serumi treba da stoje duže od 24 h, treba ih zamrznuti i čuvati na -(18-22)°C. Nije zapažena primetna promena u koncentraciji

T4 posle 3-4 uzastopna otapanja i zamrzavanja seruma. Posle odmrzavanja, serume treba dobro promućkati na vibracionoj mešalici ("Vortex-u"). Lipemične, hemolitične i ikerične serume ne testirati.

7.3. PRIPREMA KOMPONENTI

- ^{125}I -T4 i anti-T4 antiserum treba rastvoriti u 10 mL destilovane vode,
- Standarde i kontrolni serum rastvoriti u 0,5 mL destilovane vode.

7.4. IZVOĐENJE TESTA

- Obeležiti epruvete: 1 i 2 za ukupnu aktivnost (T); 3 i 4 za maksimalno vezivanje (Bo); 5-16 za standarde (S1-S6); 17 i 18 za kontrolni serum (KS); 19-100 za uzorke seruma nepoznate koncentracije T4 (X).
- Dodati u epruvete 3-4 po 0,025 mL standarda "0".
- U epruvete 5-16 dodati sukcesivno po 0,025 mL standarda 1-6.
- U epruvete 17 i 18 dodati po 0,025 mL kontrolnog seruma.
- U epruvete 19-100 dodati po 0,025 mL nepoznatog uzorka.
- U sve epruvete dodati po 0,1 mL ^{125}I -T4.
- U sve epruvete (osim 1 i 2) dodati po 0,1 mL anti-T4 antisera.
- Dobro promućkati svaku epruvetu na vibracionoj mešalici.
- Inkubirati 1 h na temperaturi od 18-22°C (sobna temp.).
- Dodati u sve epruvete osim (1 i 2) po 1 mL rastvora PEG-a, na temperaturi od 4-8 °C.
- Centrifugovati 15 min na 4000 obrtaja u minuti (3000 × g).
- Supernatant odstraniti odlivanjem ili usisavanjem.
- Meriti radioaktivnost taloga 1 min u gamascintilacionom brojaču.

8. IZRAČUNAVANJE REZULTATA

Preporučuje se da se određivanje T4 vrši u duplikatu.

- Po izvršenom merenju odrediti srednju vrednost izmerene radioaktivnosti za sve merene veličine (T, Bo, S1 - S6, KS i uzorke).
- Izračunati procenat vezivanja: $\text{VEZIVANJE} = \text{Bo}/\text{T} \times 100 (\%)$.
- Izračunati procenat vezivanja za standarde, kontrolni serum i nepoznate uzorke u odnosu na izmerenu vrednost standarda "0": $\text{VEZIVANJE} = \text{B}/\text{Bo} \times 100 (\%)$.
- Na apscisi se nanose vrednosti koncentracije T4 u standardima (nmol/L), a na ordinatu vrednosti $\text{B}/\text{Bo} \times 100 (\%)$ za pojedinačne standarde. Spajanjem tačaka dobija se standardna kriva sa koje se očitavaju koncentracije T4 u uzorcima.
- Za grafičko predstavljanje podataka preporučuje se LIN-LOG podela, dok se pri kompjuterskoj obradi podataka za standardnu krivu preporučuje SPLINE funkcija ili 4-parametarska kriva po Rodbard-u i saradnicima. LOGIT-LOG transformacija uz linearnu regresiju može dati izmenjene rezultate u oblasti vrlo niskih i visokih vrednosti T4.

9. KARAKTERISTIKE TESTA

9.1. DETEKCIONI LIMIT

Minimalna koncentracija T4 koja se može detektovati ovim testom određena je kao dvostruka vrednost standardne devijacije za standard "0" i iznosi 2,0 nmol/L.

9.2. PRECIZNOST ODREĐIVANJA

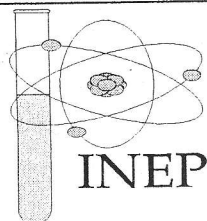
Izračunato je variranje rezultata unutar testa i između testova za serume triju različitih koncentracija T4.

VARIRANJE UNUTAR TESTA:

Uzorak	Broj određivanja	Srednja vrednost nmol/L	SD nmol/L	CV %
1.	20	20,6	1,18	4,21
2.	20	81,9	3,35	3,94
3.	20	216,7	8,70	3,56

VARIRANJE IZMEĐU TESTOVA:

Uzorak	Broj određivanja	Srednja vrednost nmol/L	SD nmol/L	CV %
1.	5	20,6	1,69	7,52
2.	5	81,9	3,79	4,28
3.	5	216,7	22,8	9,45



Institut za primenu nuklearne energije

Banatska 31b, 11080 Zemun, SCG

Tel: (+ 381 11) 612-743, 617-252

Faks: (+ 381 11) 618-724

e-mail: mail@inep.co.yu

OB122A

INEP - DIJAGNOSTIKA

KONTROLNI LIST

RIA T4 (PEG)

Serijski broj: 726876311

Rok trajanja: 16.01.2016.

Odobrio: *[Signature]*

STANDARDI

Broj	Koncentracija nmol/L	B/Bo %
1.	15,625	93
2.	31,25	81
3.	62,5	61
4.	125	45
5.	250	31
6.	500	22

Ukupna aktivnost:

56000

Maksimalno vezivanje:

77%

Kontrolni serum:

74±16nmol/L

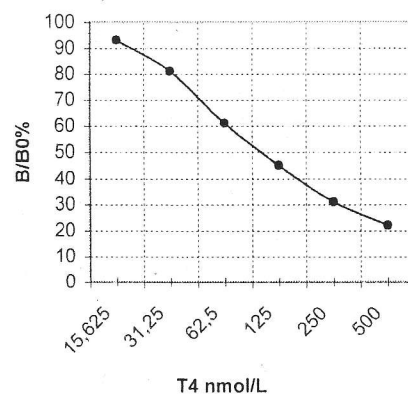
Datum kontrole:

19.11.2015.

Kontrolisao:

V. Resanović

Standardna kriva



U slučaju reklamacije priložiti kontrolni list