



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

205 192

(II) (B1)

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlásené 27 06 79

(21) PV 4407-79

(51) Int. Cl.³ G 01 N 33/56

(40) Zverejnené 30 05 80

(45) Vydané 01 07 83

(75)

Autor vynálezu TALÁN PETER RNDr., KOŠICE, MUCHA JURAJ Ing., TREBIŠOV

(54) Spôsob prípravy štandardných roztokov tyroxínu pre rádioimunoanalytickú vyšetrovaciu súpravu

1

Vynález sa týka spôsobu prípravy štandardných roztokov tyroxínu pre rádioimunoanalytickú vyšetrovaciu súpravu s koncentráciou rádoovo nanogramov v mililitri a s presne určenou relatívnou odchýlkou od deklarovanej hodnoty koncentrácie.

Dôležitou zložkou rádioimunoanalytických vyšetrovacích súprav na stanovenie tyroxínu v sére sú štandardné roztoky tyroxínu s presne známou koncentráciou. Náročnosť ich prípravy je daná skutočnosťou, že ich koncentrácia sa pohybuje v súlade s koncentráciou tyroxínu v sére, ktorá je v rozmedzí od 25 do 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$. Tým je vylúčená možnosť použitia bežných metód prípravy a kontroly výslednej koncentrácie roztokov.

Doposiaľ používané postupy prípravy štandardných roztokov tyroxínu vychádzali z najmenej možnej presnej navážky tyroxínu. V závislosti od jej veľkosti sa pripravil rozpustením a vhodným zriedením roztok tyroxínu s vopred určenou koncentráciou. Z tohoto roztoku sa pipetoval 1 ml a doplnil sa do objemu 250 ml. Týmto postupom bol získaný štandardný roztok s najvyššou potrebnou koncentráciou. Jeho ďalším zriedením sa získavali štandardné roztoky s nižšou koncentráciou tyroxínu. Tento postup bol prácny, viedol k príprave malého počtu štandardov a navyše neumožňoval zistenie a vylúčenie štandardov pripravených s hrubou náhodnou chybou. Ďalej nereprodukateľná presnosť prípravy štandardov ovplyvňovala rozhodujúcim spôsobom presnosť samotnej rádioimunoanalýzy, čím sa výrazne znižovala klinicko-diagnostická použiteľnosť súprav pre rádioimunoanalýzu.

205 182

Uvedené nevýhody sú odstránené spôsobom prípravy štandardných roztokov tyroxínu pre rádioimunoanalytickú vyšetrovaciu súpravu, ktorého podstatou je príprava 10 až 40, s výhodou 20, navážok tyroxínu v rozmedzí od 1 do 20 mg na 1000 ml základného roztoku, navážky sa rozpustia v koncentrovanom vodnom roztoku amoniaku v pomere 5 až 100 obj. dielov na 1000 obj. dielov roztoku, doplnia sa destilovanou vodou, skontroluje sa spektrofotometricky koncentrácia tyroxínu v týchto zásobných roztokoch a z ďalšieho spracovania sa vyradia tie roztoky, ktoré vykazujú odchýlku nad 4 % od priamky danej vzťahom $y = a + bx$, získanej z nameraných hodnôt extinkcie v závislosti od navážky tyroxínu metódou najmenších štvorcov a kde x je extinkcia, y je hmotnosť navážky tyroxínu, a a b sú konštanty, potom sa zásobné roztoky zriedia na pracovnú koncentráciu v rozmedzí od 0,5 do 50,0 ng.ml^{-1} , koncentrácia tyroxínu sa skontroluje rádioimunoanalýzou a vyberú sa roztoky, s výhodou šesť roztokov, vyhovujúce rovnici linearizovanej kalibračnej závislosti a majúce odchýlku od nej do 10 %.

Postupom podľa vynálezu sa získa ľubovoľné množstvo štandardov (teoreticky 1 000 000 po 1 ml) s relatívnou odchýlkou päťkrát menšou od deklarovanej hodnoty pri predchádzajúcom spôsobe prípravy, s menšou pracnosťou a vysokou reprodukovateľnosťou, pričom spôsob prípravy a kontroly podľa vynálezu znemožňuje zanesenie systematickej chyby do prípravy a umožňuje detegovať štandardné roztoky s náhodnou chybou vyššou ako je deklarovaná.

Uvedený postup je možné použiť aj na prípravu štandardov iných rádioimunoanalytických vyšetrovacích súprav.

Príklad prevedenia.

Urobilo sa 20 navážok (presne) tyroxínu, rovnomerne rozložených v intervale 1,00 až 14,00 mg - navážka č. 1: 1,21 mg, navážka č. 20: 12,71 mg. Navážky sa kvantitatívne previedli do 1000 ml silikónovaných odmerných baniek. Navážky sa rozpustili pridaním 10 ml vodného koncentrovaného roztoku amoniaku. Po ich rozpustení sa odmerné banky doplnili do 1000 ml destilovanou vodou.

Urobilo sa spektrofotometrické stanovenie koncentrácie tyroxínu tak, že sa v UV-oblasti zmerala extinkcia každého roztoku pri 225 nm. Zo získaných hodnôt extinkcií sa určila závislosť extinkcie na hmotnosti navážky. Ako hrubé chyby sa vylúčili z ďalšieho postupu prípravy roztoky, v danom príklade roztoky č. 8 a č. 15, ktorých variačný koeficient od priamky preloženej získanými bodmi metódou najmenších štvorcov je väčší ako súčet relatívnej chyby váženia, merania extinkcie a relatívnej chyby odmernej nádobky, ktorý obnáša pri navážkach nad 2,00 mg 3,7 % a pod 2,00 mg od 3,7 do 5,1 %.

Zo zostávajúcich roztokov sa odpipetovalo po 1 ml do ďalšej 1000 ml silikónovanej odmernej nádoby a doplnilo sa do 1000 ml 0,08 M barbitálovým tlmivým roztokom (pH = 8,6) s obsahom 0,2 % hovädzieho sérového albumínu. Tým sa získala sada štandardov po 1000 ks (1 ml) s koncentráciou v rozsahu od 1,00 až do 14,00 ng.ml^{-1} .

Z každej sady vzoriek s rovnakou koncentráciou sa zoberalo po 10 vzoriek štandardov.

S použitím súpravy pre rádioimunoanalýzu sa zostrojilo 10 kalibračných závislostí za použitia vybraných vzoriek. Tieto závislosti sa transformovali do logit-log súradníc. Vzorky, ktoré štatisticky signifikantne vybočovali od priamkovej závislosti v týchto desiatich závislostiach sa vylúčili. Na základe tejto fázy kontroly bola pre výrobné účely použitá sada šiestich navážok č. 5,4,9,12,14 a 17.

Týmto spôsobom sa získajú štandardné roztoky s relatívnou odchýlkou $\pm 5\%$ od deklarovanej hodnoty (relatívna odchýlka závisí od použitých váh, spektrofotometra a použitého odmerného skla).

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob prípravy štandardných roztokov tyroxínu pre rádioimunoanalytickú vyšetровaciu súpravu, vyznačujúci sa tým, že sa pripraví 10 až 40, s výhodou 20, navážok tyroxínu v rozmedzí od 1 do 20 mg na 1000 ml základného roztoku, navážky sa rozpustia v koncentrovanom vodnom roztoku amoniaku v pomere 5 až 100 obj. dielov na 1000 obj. dielov roztoku, doplnia sa destilovanou vodou, skontroluje sa spektrofotometricky koncentrácia tyroxínu v týchto zásobných roztokoch a z ďalšieho spracovania sa vyradia tie roztoky, ktoré vykazujú odchýlku nad 4 % od priamky danej vzťahom $y = a + bx$, získanej z nameraných hodnôt extinkcie v závislosti od navážky tyroxínu metódou najmenších štvorcov a kde x je extinkcia, y je hmotnosť navážky tyroxínu, a, b sú konštanty, potom sa zásobné roztoky zriedia na pracovnú koncentráciu v rozmedzí od 0,5 do 50,0 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$, koncentrácia tyroxínu sa skontroluje rádioimunoanalýzou a vyberú sa roztoky, s výhodou šesť roztokov, vyhovujúce rovnici linearizovanej kalibračnej závislosti a majúce odchýlku od nej do 10 %.