

FT₃ [¹²⁵I] RIA készlet

(Ref: RK-33CT)

A FT₃ [¹²⁵I] RIA készlet humán szérumban szabad 3,5,3'-trijód-L-tironin (T₃) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0-40 pmol/l mérési tartományban.

Bevezetés

A T₃ a legaktívabb pajzsmirigy hormon, amely a keringésben 99,7 %-ban fehérjékhez kötött formában van jelen. A hormon szabad formája felelős a biológiai aktivitásért, és elsődleges szerepe van az eutireotikus (normál) állapot fenntartásában. Eutireózisban a szabad T₃-szint normális marad olyan állapotokban is, mint pl. a terhesség, androgén-terápia, ösztrogén-terápia, orális fogamzásgátlók szedése, amelyek abnormalis kötőfehérje-szinttel járnak, ezért a totál T₃ szintet megváltoztatják.

A hipertireozist emelkedett szérumban FT₃ koncentráció kíséri, és az FT₃ koncentráció növekedése már olyan esetekben is körjelző lehet, amelyben mind a TSH, mind az FT₄ koncentráció normális. Az FT₃-szint csökkenése nemcsak primer hipotireozisban jellemző, hanem felléphet nem-pajzsmirigy eredetű megbetegedésekben is (pl. alacsony-T₃ szindróma).

A mérés elve

Az FT₃ mennyiségi meghatározására alkalmas jelen készlet működése a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. A mintában lévő FT₃ vetélkedik a rendszerhez adott konjugátummal (T₃ analóg) a korlátozott számú ¹²⁵I-dal jelzett monoklonális antitest (tracer) köthetőkért. A reakció lejátszódása alatt a reaktív cső a konjugátumhoz kötött jelzett antitestet megköti. A bevont cső felületén lévő jelzett antitest radioaktivitása, amely fordítottan arányos a minta FT₃ koncentrációjával, gamma-számlálóval mérhető.

A standardok relatív kötésiértékei és koncentrációi ismeretében szerkesztett méro-(standard)-görbéről, a minták relatív kötésiértékei alapján, azok FT₃ koncentrációja meghatározható.

A készlet tartalma

1 üveg ¹²⁵I-TRACER, felhasználásra kész. 55 ml pufferes oldat, radioaktivitása < 300 kBq, 0,1% nátrium-azidot és piros színezéket tartalmaz.

1 üveg KONJUGÁTUM, felhasználásra kész, 55 ml pufferes oldat, 0,1% nátrium-azidot és kék színezéket tartalmaz. Óvjuk a közvetlen napfénytől!

6 üveg STANDARD₍₁₋₆₎, felhasználásra kész humán szérumban, 0,1% nátrium-azid tartósítóval, 6 x 0,5 ml, koncentrációjuk 0 (S₁), 2 (S₂), 5 (S₃), 10 (S₄), 20 (S₅) és 40 (S₆) pmol/l.

1 üveg ELLENORZO SZÉRUM, liofilizált, 0,1% nátrium-azid tartósítóval, rekonstituálható 0,5 ml desztillált vízzel. Az ellenorzo szérumban koncentrációját a kísérő minőségellenorzási bizonylat tartalmazza.

2 doboz BEVONT CSŐ, felhasználásra kész. 2x50 db 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag tartódobozban.

1 db Minőségellenorzási bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök:

kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben, automata pipetták, 100 és 500 µl-es térfogatú, eldobható muanyag hegyekkel, örvénykevero (vortex) rázógép vagy orbitális kevero, kémcsőzáró muanyag fólia, papírvatta vagy itatóspapír, gamma-számláló

Ajánlott: sorozat-adagoló pipetta, orbitális kevero

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérumban mintákat a más, ugyancsak szérumban igényelt laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben az FT₃ meghatározás a mintavétel követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat +2 - +8 °C-on, későbbi felhasználás esetén -12 °C alatt mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumban nem használunk mérésre.

A reagensek előkészítése

A liofilizált normál ellenorzo szérumban rekonstituáljuk 500 µl desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot 20 percig még nem használjuk fel. A mérés megkezdése előtt engedjük szobahőmérsékletre melegedni a reagens oldatokat, és a mérendő mintákat is. A -20 °C-ról felolvasztott szérumban homogenizáljuk felhasználás előtt örvénykeverővel.

A meghatározás menete

(ld. folyamatábra, 1. táblázat)

- 1) Vegyük elő valamennyi komponenst a hideg tárolóból és hagyjuk az összes reagenst szobahőmérsékletre melegedni.
- 2) Jelöljük meg két-két készletben lévő muanyag csövet az
 - összes beütésszám (T) mérésére, valamint
 - standard (S₁₋₆)(S₁=B₀)
 - ellenorzo szérumban (C)
 - vizsgálandó minták (M_x)
- 3) Felhasználás előtt a mintákat és az összes reagenst alaposan homogenizáljuk, de kerüljük el a habzást.
- 4) Mérjük 100 µl STANDARDot (S₁₋₆), illetve ELLENORZO SZÉRUMot (C), és szérumban mintát (M_x) a megfelelő csövekbe.
- 5) Mérjük minden csőbe 500 µl KONJUGÁTUM oldatot, kivéve a T jelű csöveket.
- 6) Mérjük minden csőbe 500 µl TRACER oldatot. A kinetikus effektus kiküszöbölése érdekében az utolsó reagens hozzáadásának időtartamát a lehetséges minimumra kell szorítani. Általános szabályként ez a lépés öt percnél ne legyen hosszabb. Ez célszerűen sorozat-adagoló pipettával biztosítható.
- 7) A csöveket fedjük le légmentesen muanyag fóliával. Ha T jelű cső is készült, helyezük külön a többi csővel.
- 8) Helyezzük a kémcsöveket rögzítő kémcsőtartó állványba, a T jelű csövek kivételével. Erosítsuk fel az állványt a keverőgépre, vagy az orbitális keverőre, úgy, hogy az biztonságosan rögzítve legyen.
- 9) Indítsuk el a keverést, és állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük ezzel a beállítással 2 órán keresztül szobahőmérsékleten.
- 10) A csőtartót fejfelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 5 percig. Gyozodjunk meg arról, hogy a cső peremén nem maradtak folyadékcseppek.
- 11) Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gamma-számlálóval.

12) Számítsuk ki az eredményeket a következő fejezet szerint.

1. Táblázat. Folyamatábra, Pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

Reagens	Totál (T)	Standard S ₁ -S ₆	Minta (M _x)	Ellenőrző szérum (C)
Standard		100		
Minta			100	
Ellenőrző szérum				100
Konjugátum		500	500	500
Tracer	500	500	500	500
Gépi kevertetés 2 órán át szobahőmérsékleten.				
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron min. 5 percig.				
Radioaktivitás-mérés (legalább 60 másodperc/cso).				
Adatfeldolgozás.				

Az eredmények számítása. A nem specifikus kötés (NSB) meghatározása nem szükséges az assayben mivel az nem befolyásolja az FT₃ koncentráció meghatározását. Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét. Számítsuk ki a B₀/T-t az alábbi egyenlettel:

$$B_0/T \% = 100 * S_1(\text{cpm}) / T(\text{cpm})$$

(Ez az érték a mérés egyik minőségi mutatója, amelynek kiszámítása a minta-koncentrációk meghatározásához nem feltétlenül szükséges.) Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérum és a minták kötési százalékát az alábbi egyenlettel:

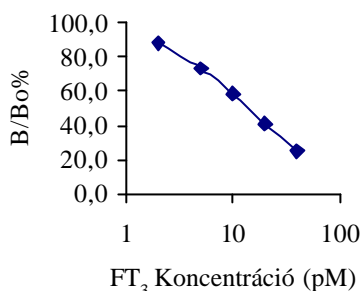
$$B/B_0 \% = 100 * S_{2-6} ; C ; M_x(\text{cpm}) / S_1(\text{cpm})$$

Egy jellegzetes mérési adatsort foglalj össze a 2. táblázat. Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított B/B₀ értékeket a standard koncentrációjának függvényében (lásd az 1. ábrát). Az így kapott standardgörbéről (mérőgörbéről) olvassuk le a vizsgált minta B/B₀ értékeihez tartozó koncentrációt.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is.

2. táblázat. Jellemző mérési eredmények

C _{so}	Beütés CPM1	Beütés CPM2	Átlag CPM	B/T %	B/B ₀ %
T	90813	91281	91047		
S1	44588	45108	44848	49,3	100,0
S2	39675	39475	39575	43,5	88,2
S3	32476	33349	32913	36,1	73,4
S4	26166	26481	26324	28,9	58,7
S5	18342	18613	18478	20,3	41,2
S6	11419	11142	11281	12,4	25,2
C	35488	35061	35275	38,7	78,7



1. ábra

Tipikus standard görbe

Átszámítás az SI mértékegységre

$$1 \text{ pmol/l} = 0.0651 \text{ ng/dl}$$

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T	<1 %
B ₀ /T	55±10 %
ED-50	11,4 ±4 pmol/l

Specifitás

0 koncentrációjú standardhoz különböző koncentrációban keresztreakáló anyagokat adtunk és mértük a látszólagos FT₃ koncentrációt. Az eredmények az alábbi táblázatban láthatók.

Hozzáadott anyag	Koncentráció (nmol/l)	FT ₃ mért (pmol/l)
r-T ₃	100	<DL
r-T ₃	1000	3,1
r-T ₃	10000	28,6
3,3' dijó-d-L-thyronin	3	1,3
3,3' dijó-d-L-thyronin	10	4,2
3,3' dijó-d-L-thyronin	30	16,1
3,5 dijó-d-L-thyronin	10	2,1
3,5 dijó-d-L-thyronin	30	4,6
3,5 dijó-d-L-thyronin	300	38,3
T ₄	79	<DL
T ₄	258	1,19
T ₄	412	3,28

DL – detektálási limit

Érzékenység

A kimutatási határ (érzékenység) a 0-standard (± 2*SD szórás által meghatározott) konfidencia-intervallumától szignifikánsan megkülönböztethető legkisebb koncentrációt jelenti. Esetünkben ez 10 párhuzamossal végzett mérésből meghatározva 0,58 pmol/l.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 10 párhuzamossal egy mérési sorozatban, az inter-assay pontosságot duplikát méréssel 13 független mérésben határoztuk meg. A méréseket különböző hőmérsékleten (20-30 °C) és rázógépeken végeztük. A kapott adatokat az alábbi táblázat foglalja össze:

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag (pmol/l)	CV %	Átlag (pmol/l)	CV %
2,43	9,0	2,71	12,4
3,39	4,6	3,45	7,98
6,44	3,3	6,51	4,76
11,6	3,2	12,9	8,04
40,0	2,2	39,2	5,62

Várható referens tartomány:

A várható referens tartomány becsléséhez meghatároztuk egészségesnek feltételezett véradók FT₃ koncentrációit 2 párhuzamos mérésből.

Kor (év)						
	n	Átlag	SD	Min	Max	H
No	197	35,4	12,1	18	63	
Férfi	200	35,4	11,7	18	64	-
No+férfi	397	35,4	11,9	18	64	-
FT ₃ (pmol/l)						
No	197	3,35	0,80	1,9	10,2	1,7-5,0
Férfi	200	3,95	0,63	2,4	6,6	2,7-5,2
No+férfi	397	3,65	0,78	1,9	10,2	2,5-5,4

H= az eloszlási görbe alsó és felső 2,5 %-ánál meghúzott határ.

Csak statisztikai megfontolások alapján ajánlott referens tartomány (átlag±2*SD szerint) 2,09–5,21 pmol/l. **Statisztikai megfontolások és klinikai tapasztalatok alapján javasolt referens tartomány 1,9-5,7 pM.**

A megadott referens tartomány csak tájékoztató adatnak tekintendő, és nem helyettesítheti a készletet felhasználó laboratóriumok saját területükre jellemző normálértékének megállapítását.

Tárolás

A készlet komponensei felnyitás előtt és után 2-8 °C között tárolhatók a lejárati időn belül. A rekonstituált ellenőrző szérum -12°C alatt 2 hónapig tárolható.

A készlet lejárati ideje

A reagens tartóssága a gyártástól számítva 8 hét. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve. A tartósság optimális kihasználására javasoljuk a laboratóriumoknak, hogy rendeléseiket a készlet-gyártási naptárhoz igazítsák.

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó FT₃ készletének komponenseivel.

Biztonsági óvórendszabályok

Radioaktivitás

A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

Fertőzésveszély

A kitben lévő humán szérumot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumot tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 113,5 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatorna hálózatba.



Lejáratí ido



Gyártási szám



2-8°C-on tárolandó



Ellenőrző szérum



Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok



Standard



Biológiai veszély



Bevont cso



Lásd használati utasítás



Tracer



In vitro diagnosztikai eszköz



Konjugátum



Gyártó



Katalógus szám



Radioaktív anyag



WEB oldal: <http://www.izotop.hu>

Technikai e-mail: immuno@izotop.hu

Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu



IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247