

T₃ [¹²⁵I] RIA készlet (REF: RK-6CT1)

A T₃ [¹²⁵I] RIA készlet humán szérum L-3,5,3'-trijódtironin (T₃) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0-12 nmol/l (0-7,8 ng/ml) mérési tartományban.

Bevezetés

A T₃ a legaktívabb pajzsmirigy hormon, melynek csak 20 %-a termelődik a pajzsmirigyben, 80 %-ban a T₄ hormon dehidrogénje útján keletkezik. Molekula tömege 651 g.

A hormon a keringésben 99,5 %-ban "thyroxine binding globulin"-hoz (TBG), "thyroxine binding pre-albumin"-hoz (TBPA) és albuminhoz kötött formában van jelen. A hormon szabad formája felelős a biológiai aktivitásért, és az eutireotikus (normál) állapot fenntartásában elsődleges szerepe van.

A T₃ emellett fontos szerepet játszik a hTSH szekréciójában, a sejtek növekedési és differenciálódási folyamataiban, valamint egyes transzportfolyamatok (pl. glükóz, aminosav és Ca felvétel) szabályozásában.

A szérum T₃ koncentrációja érzékeny mutatója a pajzsmirigy állapotának, elsősorban a pajzsmirigy túlműködésének. Hipertireózis esetén növekszik a szérum T₃ koncentráció, de hipotireózisban - a T₄ hormonnal ellentétben - nem feltétlenül mérhető csökkent hormonszint. Ebből adódóan a T₃ RIA önállóan csak hipertireózis szűrésére alkalmas, a hipotireózis diagnózishoz csak más hormon-méréssel (T₄ RIA, FT₄ RIA) kiegészítve.

Emellett T₃ koncentráció-növekedés tapasztalható terhességben, orális fogamzásgátló szedésekor és ösztrogén terápiban. T₃ koncentráció csökkenést okozhatnak egyes májbetegségek, nephrózis és androgén terápia.

A mérés elve

A készlet működése a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. A ¹²⁵I-dal jelzett állandó mennyiségű T₃ vetélkedik a mintában jelenlévő (mérando) jelzetlen T₃-mal a korlátozott számú antitest köthelyekért. A reakció lejárásának alatt a reaktív kémcső az antitesthez kötött antigént megköti. A bevont cső felületén lévő jelzett antigén radioaktivitása, amely fordítottan arányos a minta T₃ koncentrációjával, gamma-számlálóval mérhető.

A standardok relatív kötésiértékei és koncentrációi ismeretében szerkesztett mérő-(standard) görbéről, a minták relatív kötésiértékei alapján, azok T₃-koncentrációja meghatározható.

A készlet tartalma

- 1 flakon ¹²⁵I-TRACER (11 ml), pufferes oldat radioaktivitása <260kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 1 flakon ANTISZÉRUM (105 ml), pufferes oldat, 0,1 % mertiolát tartósítósóval.
- 6 üveg STANDARD (6 x 0,5 ml), humán szérum, 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval,

koncentrációjuk (S1 - S6): 0; 0,5; 1,5; 3; 6; 12 nmol/l.

4. 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM, liofilizált, 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, rekonstituálandó 0,5 ml desztillált vízzel. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

5. 2 doboz BEVONT CSO, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag dobozban.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsörögzőtő kiképzésben; pipetták (0,1 és 1 ml térfogatra, eldobható muanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzáró muanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta

A mérando minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben az T₃ meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumot ne használjunk mérésre.

A reagensek elokészítése, tárolása

A készlet komponensei az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolhatóak a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

A liofilizált normál ellenőrző szérumot rekonstituáljuk 500 µl desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot 20 percig még ne használjuk fel. A rekonstituált ellenőrző szérum 2-8°C-on a készlet lejáratiáig tárolható.

FIGYELEM!

A mérés megkezdése előtt a reagens oldatokat, és a mérando mintákat is engedjük szobahőmérsékletre melegedni majd alaposan homogenizáljuk őket, de kerüljük el a habzást.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérum (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 100 µl STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csobe 100 µl TRACER oldatot.

4. Mérjük minden csobe 1000 µl ANTISZÉRUM oldatot, kivéve a T jelű csöveket.
5. Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó állványba, fedjük le őket légmentesen muanyag fóliával. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten.
6. A csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

Az eredmények számítása

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Számítsuk ki a B₀/T-t az alábbi egyenlettel:

$$S_1 \text{ (cpm)}$$

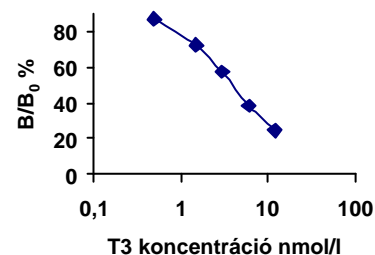
$$B_0/T\% = \frac{S_1}{T} \times 100$$

Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérum és a minták kötési százalékát az alábbi egyenlettel:

$$S_{2-6} / C / M_x \text{ (cpm)}$$

$$B/B_0(\%) = \frac{S_i \text{ (cpm)}}{S_1 \text{ (cpm)}} \times 100$$

Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított B/B₀ értékeket a standard koncentrációjának függvényében. Egy jellemző standardgörbét mutat az 1. ábra. Az így kapott standard görbéről (mérőgörbéről) olvassuk le a vizsgált minta B/B₀ értékeihez tartozó koncentrációt.



1. ábra
Jellemző standardgörbe
(Mintamérésre nem használható!)

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	C	M
Standard		100		
Ell.szérum			100	
Minta				100
Tracer	100	100	100	100
Antiszerum		1000	1000	1000
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cso)				
Adatfeldolgozás				

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

készítményhez a négyzetes logit-log illesztés program használatát javasoljuk.

Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. Táblázat.

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B ₀ /T %	B/B ₀ %
T	82800 82414	82607		
S1	41973 40338	41156	49,8	100,
S2	35009 36386	35698	43,2	86,7
S3	29766 29650	29708	36,0	72,2
S4	23583 23702	23643	28,6	57,4
S5	15502 16145	15824	19,2	38,4
S6	9973 10191	10082	12,2	24,5
C	28840 28936	28888	35,0	70,2

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

B₀/T = 45 ± 6%
ED-50 = 4,5 ± 0,9 pmol/l

Specifitás

A specifitást a keresztreakcióval jellemezzük, úgy, hogy az 50%-os gátlást okozó T₃ koncentráció százszorosát osztjuk a keresztreakáló anyag ugyancsak 50%-os gátlást eredményező koncentrációjával.

Keresztreakciók: (az 50 %-os B/B₀-hoz tartozó dózisok %-os aránya)

3,5,3'-trijódtironin (T ₃)	100 %
Tiroxin (T ₄)	< 0,06 %
3,3',5'-trijódtironin (rT ₃)	< 0,016 %
3,3'-dijódtironin (T ₂)	< 1,9 %

Érzékenység

A készlet analitikai érzékenysége <0,3 nmol/l, 15 párhuzamossal végzett mérésből meghatározva. Értéke egyenlő a 0-standard + a 0-standard kétszeres standard deviációjának összegével.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 10 párhuzamossal egy mérési sorozatban, az inter-assay pontosságot duplikát méréssel 7 független mérésben határoztuk meg.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag nmol/l	CV%	átlag nmol/l	CV%
1,83	5,8	0,91	10,6
2,06	5,9	1,72	4,3
2,29	4,5	1,76	4,6
3,10	6,0	2,37	4,0
9,32	5,0	4,31	3,9

Várható referens tartomány

120 önkéntes véradó no mintájának T₃ koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag: 2,18; SD: 0,5; minimum: 1,25; maximum: 3,91. Várható referens tartomány: 1,4 – 3,3 nmol/l.

118 önkéntes véradó férfi mintájának T₃ koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag: 1,80; SD: 0,3; minimum: 0,55; maximum: 2,75. Várható referens tartomány: 1,0 – 2,6 nmol/l.

Ezen önkéntes véradók (n=238) mintájának T₃ koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag: 1,99; SD: 0,49; minimum: 0,55; maximum: 3,91. Várható referens tartomány: 1,0 – 3,3 nmol/l.

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

Átszámítás az SI mértékegységről

1 nmol/l = 0,65 ng/ml
1 µg/dl = 1,54 nmol/l

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közöséges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet! Ennek elkerülésére a muanyag dobozból soha ne vegyünk ki többet a szükséges mennyiségnél, illetve a felhasználatlan kémcsöveket azonnal tegyük vissza eredeti tartódobozukba. Ha az összekeverés veszélye a feldolgozás alatt is fennáll, célszerű a bevont csöveket más módon is megjelölni (pl. üvegre író tollal "meggyuruzni").

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsótartó használható, amelyben a csövek rögzítve vannak. "Lötyögős" állványban a kémcsövek tartalma egyáltalán nem, vagy egyenetlenül keveredik, annak ellenére, hogy maga az állvány, és a kémcső mozgásban van. Egyetlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis (fals magas!) mérési eredményekhez vezethet!

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó T₃ készletének komponenseivel.

Biztonsági óvórendszabályok

Radioaktivitás

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









Fertőzésveszély

A készletben 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 14,5 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 csatornahálózatba.

	Lejárat idő	LOT	Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó	CONTROL	Kontrol
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CAL	Standard
	Biológiai veszély	CT	Bevont cső
	Lásd használati utasítás	TRAC	Tracer
	In vitro diagnosztikai eszköz	AS	Antiszerum
	Gyártó		
REF	Katalógus szám		
	Radioaktív anyag		

WEB oldal: <http://www.izotop.hu>
Technikai e-mail: immuno@izotop.hu
Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP
IZOTÓP INTÉZET Kft.
1535 Budapest, Pf.: 851.
Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247

