

RK-339CTMCE171210
FT3 [I-125] RIA KIT
 (Ref: RK-339CT)

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 (0-26 pg/ml) mérési tartományban.

A készlet RIA automatán való feldolgozásra alkalmas.

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 abnormális kötőfehérje-szinttel járnak, ezért a totál T₃ szintet megváltoztatják.

A hipertireózist 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 hipotireózisban 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 reaktív csőfalon levő konjugátummal (T₃ analóg) a korlátozott számú ¹²⁵I-dal jelzett monoklonális antitest (tracer) kötőhelyekért. A reakció lejártszódása után a bevont cső felületén lévő jelzett antitest radioaktivitása, fordítottan arányos a minta FT₃ koncentrációjával és gamma-számlálóval mérhető.

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

A készlet tartalma

1 flakon ¹²⁵I-TRACER, felhasználásra kész. 22 ml, ¹²⁵I-jelzett monoklonális antitest pufferes oldata, radioaktivitása < 260 kBq. Vörös színezéket és 0,1 % NaN₃ tartósítószer tartalmaz.

6 üveg STANDARD, felhasználásra kész. 6 x 1 ml, szabad T₃ tartalmára nézve kb. 0(S₀), 3 (S₁), 7 (S₂), 15 (S₃), 20 (S₄) and 40 (S₅) pmol/l, humán szérumban alapú 0.1% NaN₃ tartósítószer tartalmaz.

A standardok koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

2 üveg KONTROLL SZÉRUM, 2 x 1,0ml felhasználásra kész, humán szérumban alapú 0.1% NaN₃ tartósítószer tartalmaz.

A kontroll szérumok koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

2 doboz BEVONT CSŐ, 2 x 50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, műanyag dobozban.

1 db Minőség ellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás.

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben; pipetták (100, 200 és 1000 µl-es térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); desztillált víz, rázógépj; kémcsőzároló műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló, örvénykeverő (vortex)

Ajánlott: sorozat-adagoló pipetta folyadékadagoló (1 ml-hez)

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérummintákat a más, ugyancsak szérumot igénylő laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben az FT₃ meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat +2 - +8°C-on, későbbi felhasználás esetén -12°C alatt mélyhűtve tartjuk.

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

A meghatározás menete

(ld. folyamatábra, 1. táblázat)

1. Vegyük elő valamennyi komponenst a hűtő tárolóból és hagyjuk az összes reagenst szobahőmérsékletre melegedni.
2. Jelöljük meg két-két készletben lévő műanyag csövet az
 - összes beütésszám (T) mérésére, valamint
 - standard (S₀₋₅)
 - ellenőrző 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 (S₀₋₅), illetve ELLENŐRZŐ SZÉRUMot (C), és szérummintát (M_x) a megfelelő csövekbe.
5. Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
6. Helyezzük a kémcsöveket rögzítő kémcsőtartó állványba, a T jelű csövek kivételével. A csöveket fedjük le légmentesen műanyag fóliával. Erősítsük fel az állványt a keverőgépre, vagy az orbitális keverőre, úgy, hogy az biztonságosan rögzítve legyen.

7. Indítsuk el a keverést, és állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük ezzel a beállítással 1 órán keresztül szobahőmérsékleten.

8. A csőtartót fejfelé lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.

9. Adjunk minden csőhöz 1 ml desztillált vizet, majd ismételjük meg 1x az 8. lépést.

10. Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gamma-számlálóval.

11. Számítsuk ki az eredményeket a következő fejezet szerint.

1. Táblázat Folyamatábra, Pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

Reagens	Total	Standard	Ellenőrző szérumban	Minta
Standard		100		
Ellenőrző szérumban			100	
Minta				100
Tracer	200	200	200	200
Gépi kevertetés 1 órán át szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Deszt. víz		1000	1000	1000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás-mérés (legalább 60 másodperc/cső).				
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:

$$B_0/T \% = 100 * S_0(\text{cpm}) / T (\text{cpm})$$

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

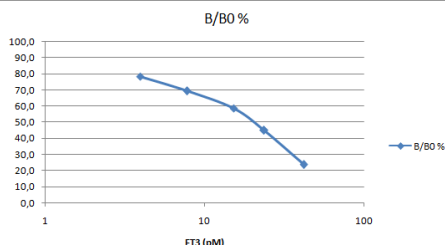
$$B/B_0 \% = 100 * S_{1-5} ; C ; M_x (\text{cpm}) / S_0 (\text{cpm})$$

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

Cső	CPM1	CPM2	CPM3	B/T %	B/Bo %
T	110842	110123	111071		
S0	75133	77798	76567	69,1	100,0
S1	59692	60030	59857	54,1	78,2
S2	53184	53186	52703	47,9	69,3
S3	44779	44895	44581	40,4	58,5
S4	34566	34598	33973	31,1	44,9
S5	18076	18217	18033	16,4	23,7
CI	56646	55922	56405	50,9	73,6
CII	49246	49623	48870	44,5	64,4



1. Ábra
Tipikus standard görbe

Hozzáadott L-rT3 pmol/l	Mért FT3 pmol/l
100 000	<DL
500 000	3,6
1 000 000	9
4 000 000	24

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 20 párhuzamossal egy mérésben határoztuk meg míg az inter-assay pontosságot 96 mérésben két párhuzamossal. Az eredményeket az alábbi táblázat foglalja össze.

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag (pmol/l)	CV%	Átlag (pmol/l)	CV%
1,8	6,4	1,6	12,6
3,2	4,0	3,2	7,7
3,9	3,4	7,6	5,4
7,0	2,7	11,2	4,3
11,8	3,1	19,4	2,8
18,2	1,3	24,5	6,2

Várható referens tartomány

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

Javasolt referens tartomány 3,7-8,5 pmol/l

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közönséges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet! Ennek elkerülésére a műanyag 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 "meggyűrűzni").

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsőtartó 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. Egyenetlen, 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 FT₃ készletének komponenseivel.

Biztonsági óvrendszabályok

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 készletben lévő **humán szérumot** tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV-Ab, HBsAg, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest 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 30 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgező 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.

Tárolás

A készlet komponensei 2-8°C között tárolhatók a 67 napos lejárati időn belül.



Lejárati idő



Gyártási szám



2-8°C-on tárolandó



Kontrol



Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok



Standard



Biológiai veszély



Bevont cső



Lásd használati utasítás



Tracer



In vitro diagnosztikai eszköz



Radioaktív anyag



Gyártó



Katalógus szám



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

Technical e-mail: immuno@izotop.hu

Commercial e-mail: commerce@izotop.hu



INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: (+36) 1-392-2577

Fax: (+36) 1-395-9247

Hozzáadott L-T4 pmol/l	Mért FT3 pmol/l
50 000	<DL
100 000	<DL
250 000	2
500 000	9
1 000 000	22