

T₃ [I-125] RIA készlet (REF: RK-609CT)

A T₃ [I-125] 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 dehidrogénáz 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 terápian. T₃ koncentráció csökkenést okozhatnak egyes májelégtelenségek, nephrozis és androgén terápia.

A mérés elve

A készlet működése a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. A ¹²⁵I-dal jelzett állandó mennyiségű T₃ vetélkedik a mintában jelenlevő (méréndő) jelzetlen T₃-mal a korlátozott számú antitest kötéshelyekért. A reakció lejárata 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 (22 ml), pufferes oldat radioaktivitása <260kBq, 0,1 % nátrium-azidot és Kathon CG-t tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 1,0 ml), humán szérum, 0,1 % nátrium-azid és Kathon CG tartósítósóval, koncentrációjuk (S0 - S5): 0; 0,75; 1,5; 3; 6; 12 nmol/l. *Aktuális koncentrációjukat a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.*

3. 2 x 1 ml ELLENŐRZŐ SZÉRUM, 0,1 % nátrium-azid és Kathon CG tartósítósóval. *Aktuális koncentrációjukat a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.*
4. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben; pipetták (0,05, 0,2 és 1 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); desztillált víz, rázógépj; kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta

A mérendő 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 előkészítése, 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.

FIGYELEM!

A mérés megkezdése előtt a reagens oldatokat, és a mérendő 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 (S0-S5), ellenőrző szérumok (CI, CII); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 50 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOKat, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó állványba, fedjük le őket légmentesen műanyag fóliával. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen (min. 600 rpm ajánlott). Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten.
5. A csőtartót fejfel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.

6. Adjunk minden csőhöz 1 ml desztillált vizet, majd ismételjük meg 1x az 5. lépést.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S5	CI/CII	M
Standard		50		
Ell.szérum			50	
Minta				50
Tracer	200	200	200	200
Kevertetés, 1 órát szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Deszt. víz		1000	1000	1000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

Az eredmények számítása

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

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

$$S_0 \text{ (cpm)}$$

$$B_0/T\% = \frac{S_0}{T} \times 100$$

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

$$S_{1-5} / CI, CII / M_x \text{ (cpm)}$$

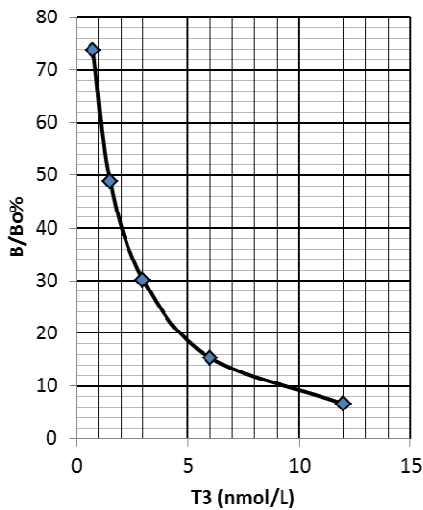
$$B/B_0(\%) = \frac{S_{1-5} / CI, CII / M_x}{S_0(\text{cpm})} \times 100$$

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.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez a négyzetes logit-log illesztő program használatát javasoljuk.

Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. Táblázat.

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B0/T %	B/B0 %
T	117 173 116 098	116 636		
S0	91 002 90 977	90 990	78,5	100,0
S1	66 959 67 119	67 039		73,7
S2	44 397 44 591	44 494		48,9
S3	27 296 27 410	27 353		30,1
S4	14 000 14 050	14 025		15,4
S5	5 922 6 326	6 124		6,7
CI	40 186 40 184	40 185		44,2
CII	21 628 21 000	21 314		23,4



1. ábra
Jellemző standardgörbe

Minőségi jellemzők

Átszámítás az SI mértékegységről

1 nmol/l = 65 ng/dl
1 ng/dl = 0,0154 nmol/l

Várható referens tartomány

Önkéntes, egészséges véradók mintáinak T₃ koncentrációját mérve a statisztikai adatok alapján várható referens tartomány:

1,25 – 3,03 nmol/l.

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

Érzékenység

Az LoB (Limit of Blank), LoD (Limit of Detection) és az LoQ (limit of Quantitation) meghatározását a CLSI guideline EP17-es ajánlásai alapján határoztuk meg. A mérési adatok alapján az alábbi értékeket kaptuk:

Limit of Blank (LoB): **0,22 nmol/L**

Limit of Detection (LoD): **0,32 nmol/L**

Limit of Quantitation: **0,37 nmol/L**

Eredmény közlés szempontjából: ha a mérési eredmény az LoB alatt van, a mintában nem detektálható a T₃. Ha az eredmény az LoB és LoD között van, a T₃ detektálható, koncentrációja < 0,32 nmol/L.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 4 egyedi humán szérumból mintával 20 párhuzamosan egy mérési sorozaton belül mérve az alábbi értékeket kaptuk.

Minta	Átlag nmol/L	Intra-assay CV%
1	1,90	3,30
2	4,49	2,98
3	1,20	3,07
4	3,40	3,44

Az inter-assay pontosságot 5 humán szérumból 2 párhuzamosan, 38 független mérésben értékelve az alábbi értékeket kaptuk:

Minta	Átlag nmol/L	InterAssay CV%
5	0,67	8,6
6	1,16	6,3
7	2,13	4,5
8	3,91	4,1
9	7,20	4,1

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

A mérés során 6 különböző humán szérumból mintába ismert mennyiségű T₃-at (IRMM 469) vittünk be három különböző koncentrációban és vizsgáltuk a kiindulási és a megemelkedett koncentráció szinteket. A visszanyerés 76,8 – 7,2% volt.

Hígítási teszt

Négy szérumból nulla standarddal végzett sorozat-hígítások a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

Az átlag visszanyerés hígítás után 117% volt.

Specifitás

A specifitást a keresztreakcióval jellemezzük. L-thyroxine-ra (T₄) keresztreakció nem volt kimutatható, úgy, hogy az 50%-os gátlást okozó T₃

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közösleges 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 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. 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 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 szérumból** tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumból HIV-Ab, HBsAg, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumból tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

Minden állati terméket és származékot egészséges állatokból nyertek. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reagensteket potenciálisan fertőzőként kell kezelni!

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 mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagensteket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

A készlet Kathon CG tartalma 30 mg.

	Lejárat 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		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