

T3-CTK

DiaSorin

Radioimunoanalýza (RIA) pro kvantitativní stanovení celkového množství trijodtyroninu (T₃) v lidském séru (systém potažených zkumavek)

REF	231-100	231-200
	100 stanovení	200 stanovení

Uživatelská příručka pro T3-CTK

Datum: 19.02.2009

Tato verze nahrazuje všechny dřívější verze uživatelských příruček.

Změny obsahu ve srovnání s předchozí verzí

- Nová verze






DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc
13040 Saluggia (VC)
Italy

Servis
Tel.: +39-0161-487-093
Fax: +39-0161-487-628



2-8°C

Obsah soupravy

CONT	REF	231-100	REF	231-200	
		100 stanovení		200 stanovení	
A	Ag 	1 x 23 mL < 1 x 172 kBq		2 x 23 mL < 2 x 172 kBq	
C	SORB	2 x 50		4 x 50	
W	BUF WASH 50x	1 x 11 mL		2 x 11 mL	
S0 – S5	CAL	6 x 1,0 mL		6 x 1,0 mL	
K1, K2	CONTROL	2 x 1,0 mL		2 x 1,0 mL	

Indikátor, jódem-125 značený roztok T₃ v Tris pufru, červená barva, připraveno k použití.

Potažené zkumavky (test. zkumavky), potažené anti-T₃ protilátkou (polyklonální, králičí), připraveno k použití.

Promývací univerzální roztok, koncentrovaný.

T₃ standardy (lidské sérum), připraveny k použití, koncentrace viz příložená příbalová informace pro kontrolu kvality.

T₃ Kontrolní séra K1 a K2 (lidské sérum), připraveno k použití, koncentrace viz příloženou příbalovou informaci pro kontrolu kvality.

Úvod

T3-CTK je konkurenční imunoradiometrická analýza (RIA) pro kvantitativní stanovení celkového množství trijodtyroninu (T_3) v lidském séru pomocí potažených zkumavek.

Během inkubační fáze bude trijodtyronin ze vzorku lidského séra nebo standardu soupeřit s radioaktivně označeným antigenem (indikátor) o vytvoření vazby s antigen-specifickou protilátkou na vnitřním povrchu zkumavek.

Koncentrace indikátoru (relativní přebytek) a koncentrace protilátek (relativní nedostatek) je stejná ve všech zkumavkách.. Jedinou proměnnou daného systému je proto koncentrace nezačteného T_3 ve vzorku (standardní séra pacientů).

Vysoká koncentrace nezačteného T_3 ve vzorku povede ke sníženému navázání jódem-125 značeného T_3 na protilátku. To znamená, že množství radioaktivity navázané na povrch zkumavky bude nepřímo úměrné požadované koncentraci T_3 v příslušném vzorku.

Důležité poznámky

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu (např. lidské sérum). Tyto materiály byly testovány na přítomnost HBsAg, HIV I/II protilátek a HCV protilátek. Všechny testy byly negativní. Přesto je nutné s činidly a vzorky od pacientů zacházet opatrně, protože všechny materiály lidského původu jsou potenciálně nebezpečné.

Tento produkt obsahuje radionuklid jód-125 ve formě otevřené radioaktivní látky. Ionizující záření ve formě fotonového záření je emitováno energií přibližně 30 keV. Poločas rozpadu je 60 dní. Tento produkt je nutno uchovávat chráněný a zabezpečený proti ztrátě. Musí se likvidovat jako radioaktivní odpad.

Pro zajištění přiměřené ochrany před zářením se musí zamezit proniknutí radioaktivních látek do organismu. Pracovní místnosti se musí větrat. Je zakázáno jíst, pít a kouřit. Při práci je nutno používat zástěru a ochranné rukavice. Zamezte zbytečnému setrvávání v blízkosti zdrojů záření. Doporučuje se vypočítat osobní dávku použitím vhodných měřících zařízení, např. filmových dozimetrů.

Standardizace a referenční rozsahy

U analýzy T3-CTK je referenční rozsah hladin séra T_3 pro zdravé štítné žlázy 1,23-3,08 nmol T_3 /L séra.

Především musí být posouzena závislost hladin séra T_3 na vazných bílkovinách (především TBG). Dále je třeba poznamenat, že u starších pacientů je hladina séra T_3 o něco nižší než u pacientů ve středním věku.

Navíc, i v případě eutyreózy může být hladina T_3 zvýšená (např. zvýšená hladina vyrovnávací T_3 v případě nedostatku jódu) nebo snižená (snižovaná konverze T_4/T_3 v důsledku těžkých onemocnění nepostihujících štítnou žlázu nebo působení léků).

V případě hypertyreózy může být hladina T_3 v normálním rozsahu.

Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila vlastní referenční rozsahy na reprezentativním vzorku pacientů a/nebo provedla test validity dat komerčně dostupné testovací soupravy výrobce. Toto umožní identifikaci lokálních vlastností a variací při prevalenci určitých nemocí štítné žlázy a dysfunkcí, a rovněž poslouží jako test metodologické kvality jednotlivých laboratoří a testovacích souprav. Údaje poskytnuté pro T3-CTK by proto měly být považovány za orientační.

Po dokončení reakce se část indikátoru, která se nenavázala na vnitřní povrch zkumavky, odstraní pomocí dekantace kapalné fáze; zbytková radioaktivita ve zkumavce se změří pomocí detektoru záření gama.

Na základě použitých standardů (známých koncentrací nezačteného antigenu) se určí profil koncentrace radioaktivity (standardní křivka). Z této křivky lze stanovit koncentraci antigenu patientských sér na základě jejich radioaktivity.

Příjem, nabytí, držení, použití a přeprava radioaktivního materiálu podléhá specifickým normám každé země.

Následující činidla soupravy obsahují konzervační látku azid sodný v koncentracích < 0,1 hmotnostních procent: indikátor A, standardy a kontroly. Tato činidla se nesmí požívat a je třeba zabránit kontaktu s kůží nebo sliznicemi.

V případě, že souprava s činidly obsahuje skleněné lahvičky, výslovně zdůrazňujeme, že u nich existuje riziko rozbití a následného poranění.

Činidla a odpad vznikající při testu je nutno likvidovat v souladu se specifikacemi místních orgánů.

Výsledky získané z této analýzy se musí vždy vyhodnotit v kombinaci s klinickým vyšetřením, anamnézou pacienta a ostatními nálezy ještě před provedením závažných opatření.

Kontrola jakosti: Musí se dodržet národní předpisy na zajištění jakosti pro kvantitativní testy ve zdravotnické laboratoři (současná verze). Například, správnost a přesnost testu lze monitorovat pomocí laboratorních kontrolních materiálů v rámci vlastního pracoviště a/nebo použitím komerčně dostupných kontrolních materiálů. Kontroly obsažené v soupravě musí například být použity pro každou dávku a výsledky musí ležet v přijatelném rozsahu, který je uvedený v příbalové informaci pro kontrolu kvality. Při získání neakceptovatelných kontrolních hodnot postupujte tak, jak je uvedeno ve standardních laboratorních diagnostických postupech pro určení příčiny, a implementujte nápravná opatření.

Literatura

1. J.H. Keffer: Preanalytical considerations in testing thyroid function. Clin.Chem. 42 (1): 125-134 (1996)
2. G.G. Klee: Clinical usage recommendations and analytic performance goals for total and free triiodothyronine measurements. Clin.Chem. 42 (1): 155-159 (1996)
3. G. Lindstedt, G. Berg, S. Jansson, O. Törring, S. Valdemarsson, B. Warin, E. Nyström: Clinical Use of Laboratory Thyroid tests and Investigations. JIFCC. 6 (4): 136-141 (1994)
4. M.L. Piketty, M. D'Herbomez, D. Le Guillouzie, R. Lebtahi, E. Cosson, A. Dumant, A. Dilouya, B.O. Helal: Clinica comparison of three labeled-antibody immunoassays of free triiodothyronine. Clin.Chem. 42 (6): 933-941 (1996)
5. G. H. White: Recent Advances in Routine Thyroid Function Testing.CRC Critical Reviews of Clinical Laboratory Sciences. 24 (4): 315-362 (1987)

Stabilita a skladovací podmínky

Všechna činidla a potažené zkumavky uchovávejte až do doby použití při teplotě 2 až 8°C v původních přepravních obalech. Dodržte doby použitelnosti uvedené na hlavním obalu a na štítcích lahvíček. Doba použitelnosti soupravy je určena dobou použitelnosti indikátoru.

Postup testu

Schéma inkubace

1. Očísľujte potažené zkumavky (a, b)	T	0	1-5	6 atd.
2. Napipetujte nulový standard	µL	–	100	–
standardy	µL	–	–	100
séra pacientů	µL	–	–	100
3. Napipetujte indikátor (připraveno k použití)	µL	200	200	200
4. Inkubujte	–	1 h ± 15 min při pokojové teplotě (18-25°C) v horizontální třepačce (170-250 ot/min)		
5. Aspirujte nebo dekantujte	–	Pomocí odsávacího zařízení odsajte dosucha nebo dekantujte a nechejte odkapat na savý papír.		
6. Napipetujte promývací roztok	mL	–	2	2
7. Opakujte krok 5	–			
8. Změřte radioaktivitu (doporučený čas odečtu: 1 min)				

Výpočet výsledků

Manipulace se vzorky

Sražená, lipemická, hemolytická, ikterická nebo kontaminovaná séra se nesmí používat.

Doporučuje se použít sérum. Pokud se použije plazma, musí se vytvořit samostatné referenční hodnoty.

Pokud vzorky séra nejsou analyzovány bezprostředně po přípravě, lze je uchovávat 3 dny při teplotě 2-8°C nebo déle při teplotě –20°C. Zkumavky se vzorky musí být vždy utěsněny. Musí se zamezit opakovanému zmražení a rozmražení.

Poznámky k provedení testu

Nepoužívejte žádná činidla po uplynutí doby použitelnosti vytištěné na štítku.

Jednotlivé komponenty soupravy jsou dokonale vzájemně sladěny. Pokud se zamění nebo smíchají komponenty z různých šarží, společnost DiaSorin S.p.A. nenesé žádnou odpovědnost za přesnost výsledků. Promývací roztok lze běžně zaměňovat mezi soupravami T3-CTK, T4-CTK, fT4-CTK, TSH-CTK a Tg-CTK.

Ve větších testovacích sériích se činidla se stejným označením šarže kombinují.

Je nutné dodržet vyznačenou posloupnost jednotlivých kroků.

Vzorky pacientů o koncentraci vyšší než je měřicí rozsah se musí označit jako "> nejvyšší standard". Výsledek se nesmí extrapolovat. Příslušný vzorek pacienta se musí zředit a znovu otestovat. Další informace lze získat v oddělení zákaznických služeb společnosti DiaSorin S.p.A.

Naředěný promývací roztok lze použít do 4 týdnů, pokud byl uchováván při teplotě 2-8°C. Kontaminovaný promývací roztok se nesmí používat. Jedná se o případ, kdy je tekutina kalná nebo hodnota pH je < 6.

Vzhledem k fotosenzitivě jódotyrimů je třeba zabránit přímé expozici slunečnímu světlu během jejich radioimunologického stanovení v séru.

Postup testu

- Příprava
 - Všechny komponenty soupravy a vzorky pacienta nechte zahřát na pokojovou teplotu.
 - Všechna tekutá činidla - včetně sér pacientů - před použitím lehce zamíchejte (zabraňte tvorby pěny).
 - Očísľujte potažené zkumavky (pokud možno použitím a, b pro duplikáty). Nepotažené zkumavky (T a, b) slouží pro měření celkové radioaktivity.
 - Připravte promývací roztok: naředte 11 mL koncentrátu s destilovanou vodou pro získání 550 mL. Před použitím jiných promývacích roztoků důrazně doporučujeme nejdříve kontaktovat výrobce nebo distributora.
- Do každé testovací zkumavky 0 a, b ... 5 a, b, napipetujte **100 µL standardu** se vzestupnými koncentracemi T3; do každé testovací zkumavky 6 a, b atd., napipetujte **100 µL kontrolního séra nebo 100 µL séra pacienta**. Aby nedošlo k přenosu do následujících vzorků, pro každý vzorek použijte novou plastovou špičku.
- Do každé zkumavky – včetně T a, b – napipetujte **200 µL indikátoru (připravený k použití)**. Zkumavky T a, b dále nezpracovávejte, dokud nebude změřena radioaktivita (viz krok 8).
- Zkumavky důkladně promíchejte pomocí homogenizátoru vzorků, zkumavky zakryjte lepicí fólií a **inkubujte na horizontální rotační třepačce (170-250 ot/min) po dobu 1 hodiny ± 15 minut při pokojové teplotě (18-25°C)**.
- Testovací zkumavky **dekantujte** – kromě T a, b – **nebo odsajte** dosucha pomocí odsávacího zařízení. Zkumavky/stojany odsávejte/dekantujte ve stejném pořadí, v jakém jste přidávali indikátor.
- Do všech zkumavek (kromě T a, b) přidejte **2 mL promývacího roztoku**.
- Poté opakujte krok 5

Poznámka Pokud dáváte přednost dekantaci, umožněte odstranění zbytku tekutiny (zkumavky obraťte dnem vzhůru na sací papír alespoň 2 až 5 minut a umožněte odstranění kapiček).

- Změřte radioaktivitu každé zkumavky včetně T a, b. **Doporučený čas odečtu: 1 minuta.**

Pečlivě dodržujte pokyny výrobce. Nesprávná manipulace s činidly může zkreslit výsledky testu. Společnost DiaSorin S.p.A. nepřijímá odpovědnost za chybné výsledky testu vyplývající z nesprávného skladování, používání nebo manipulace.

Dodatečně požadováno

- mikropipety (100, 200 µL)
- dávkoč (2,0 mL)
- mixér vzorků (např. míchačka vortex)
- třepačka s krouživým pohybem
- detektor záření gama

Výpočet výsledků

Pro počítačové vyhodnocení T3-CTK je třeba vybrat hodnotící program (spline/unsmoothed), který vyhovuje specifické kombinaci procesoru a použitého měřicího zařízení.

Pokud se vyhodnocení T3-CTK neprovádí pomocí počítače, střední hodnota impulzu každého vzorku (B) se uvede do vztahu ke střední hodnotě impulzu nulového standardu (B₀) a zanese se do grafu na milimetrový papír. Výsledek je hodnota vyjádřena v procentech jako B/B₀ (%).

Pro nulový standart platí: B/B₀ = 100%.

Na polologaritmický milimetrový papír se nakreslí křivka z vypočítaných procentuálních hodnot B/B₀ standardů (podřadnice; lineární) a odpovídající koncentrace T₃ (úsečka; logaritmická). Obsah T₃ neznámých patientských sér je možné přečíst v jednotkách nmol/L nebo ng/mL přímo z normální křivky, a to podle příslušné procentuální hodnoty B/B₀.

Převodní faktor: nmol/L = ng/mL x 1,54

Vaznost analýzy se potvrdí pomocí výpočtu B₀/T:

$$\frac{B_0}{T} (\%) = \frac{\text{střední hodnota impulzu } 0 \text{ a, b}}{\text{střední hodnota impulzu } T \text{ a, b}} \times 100$$

Ohledně technické podpory kontaktujte prosím zákaznický servis společnosti DiaSorin S.p.A. nebo příslušného distribučního partnera / obchodního zástupce.

Charakteristiky testu

- Rozsah měření

T3-CTK poskytuje rozsah měření sérových koncentrací 0-12,3 nmol/L.

- Senzitivita

Spodní limit detekce T3-CTK je nižší než 0,15 nmol/L.

Tento limit detekce je definován jako tři standardní odchylky nad nulovým standardem. Jedná se o nejnižší statisticky významnou koncentraci T₃, kterou lze ještě odlišit od nuly.

- Přesnost v rámci testů

Pro srovnání v rámci testů se provedlo 14 stanovení při různých koncentracích T₃. Získané výsledky jsou shrnuty v *tabulce 1*.

Tabulka 1:

Přesnost v rámci testů		
Průměr [nmol/L]	Standardní odchylka [nmol/L]	VC (%)
0,8	0,04	4,5
1,6	0,05	3,0
3,5	0,10	3,0

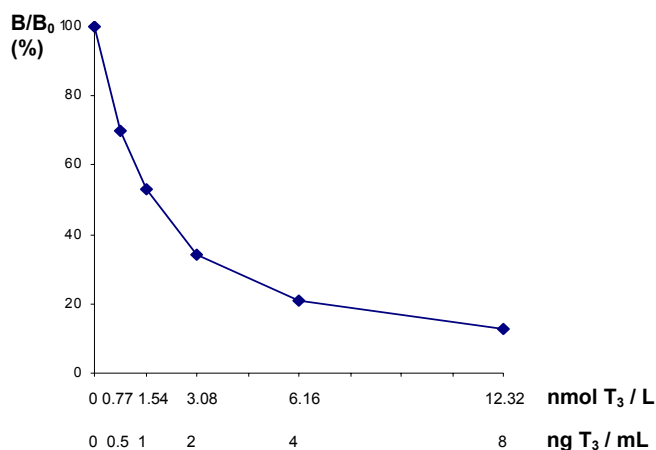
- Přesnost mezi testy

Mezilehlá přesnost byla stanovena pomocí lyofilizovaného kontrolního materiálu z různých sérií za období 17 dnů. Stanovené hodnoty jsou shrnuty v *tabulce 2*.

Příklady výpočtů

Zkumavky	IpM (a)	IpM (b)	IpM (průměr)	B/B ₀ (%)
Celková aktivita T	37 222	36 980	37 101	–
Nulový standard 0	12 980	13 200	13 090	100
Standard 1 [0,77 nmol/L]	9 222	9 196	9 209	70
Standard 2 [1,54 nmol/L]	6 934	6 822	6 878	53
Standard 3 [3,08 nmol/L]	4 558	4 368	4 463	34
Standard 4 [6,16 nmol/L]	2 689	2 799	2 744	21
Standard 5 [12,32 nmol/L]	1 726	1 689	1 712	13
Vzorek pacienta 6	4 294	4 189	4 242	32

Standardní křivka



Tabulka 2:

Přesnost mezi testy		
Průměr [nmol/L]	Standardní odchylka [nmol/L]	Variační koeficient (%)
0,8	0,06	8,0
1,6	0,08	5,0
3,5	0,21	6,0

- Specificita

Zkřížená reaktivita použité polyklonální protilátky T₃ je následující:

D-T ₃	52,0%
D-T ₄	0,2%
L-T ₂	0,2%
L-T ₄	0,06%
Kyselina trijodthyrooctová	10,2%

Zkřížená reaktivita < 0,01% byla zjištěna u následujících látek:

L-tyrozin
difenylhydantoin
fenylbutazon
amiodaron
kyselina acetylsalicylová
salicylan sodný
anilino-sulfonová kyselina
r-T₃