

# ft3-CTK

DiaSorin

## Radioimunoanalýza (RIA) pro stanovení volného trijodtyroninu (FT<sub>3</sub>) v lidském séru (systém potažených zkumavek)

REF	230-100	230-200
	100 stanovení	200 stanovení

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

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

## Uživatelská příručka pro ft3-CTK

Datum: 19.02.2009

Tato verze nahrazuje všechny dřívější verze uživatelských příruček.



**Změny obsahu ve srovnání s předchozí verzí**








- Nová verze



2-8°C

## Obsah soupravy

CONT	REF	230-100	REF	230-200
		100 stanovení		200 stanovení

A	 	1 x 105 mL < 1 x 100 kBq		2 x 105 mL < 2 x 100 kBq		<b>Indikátor</b> , <sup>125</sup> I-trijodtyronin, červené barvy, připraveno k použití.
C		2 x 50		4 x 50		<b>Potažené zkumavky</b> , potažené (králičím) antisérem anti-T <sub>3</sub> , připraveno k použití.
S0 – S6		7 x 0,8 mL		7 x 0,8 mL		<b>FT<sub>3</sub> nulový standard</b> (lidské sérum), připraveno k použití koncentrace: 0; 1,1; 2,2; 4,4; 8,8; 17,6; 35,2 pmol FT <sub>3</sub> /L nebo 0; 0,7; 1,4; 2,9; 5,7; 11,5; 22,9 pg FT <sub>3</sub> /mL.
K1 – K3		3 x 0,8 mL		3 x 0,8 mL		<b>FT<sub>3</sub> Kontrolní séra K1, K2 a K3</b> (lidské sérum), připraveno k použití, koncentrace viz příloženou příbalovou informaci pro kontrolu kvality.

## Úvod

Radioimunoanalýza je založena na kompetici neznačeného antigenu sérových vzorků nebo standardů a radioaktivně značeného antigenu (indikátor) pro vazebná místa antigeně specifické protilátky. Později jmenovaná látka je fixována na vnitřním povrchu zkumavky (technologie potažené zkumavky), čímž dochází k imobilizaci vytvářeného komplexu antigen-protilátka.

Koncentrace indikátoru (relativní přebytek ve srovnání s protilátkou) a koncentrace protilátky jsou konstantní ve všech zkumavkách během jedné analýzy. Jediným proměnným parametrem systému je tudíž koncentrace neznačeného antigenu (standarty a vzorky). Jelikož se koncentrace neznačeného antigenu ve vzorku zvyšuje, vazba kompetujících molekul indikátoru na protilátku je stále více inhibována, tj. radioaktivita

## 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 čidly 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 dozimetřů.

## Standardizace a referenční rozsahy

<b>Eutyreóza</b>	3,6-7,8 pmol FT <sub>3</sub> /L (95%)	2,3-5,1 pg/mL (95%)
<b>Eutyreóza</b>	3,4-8,5 pmol FT <sub>3</sub> /L (99%)	2,2-5,5 pg/mL (99%)
<b>Hypotyreóza</b>	< 3,4 pmol FT <sub>3</sub> /L	< 2,2 pg/mL
<b>Hypertyreóza</b>	> 8,5 pmol FT <sub>3</sub> /L	> 5,5 pg/mL

Někdy mohou být horní limity těchto rozsahů lehce zvýšené, zejména v regionech s jódovým deficitem.

Podle očekávání, hypertyreóza vykazuje supranormální sérové hladiny FT<sub>3</sub> téměř ve všech případech. U hypertyreózy jsou nicméně pozorovány subnormální hodnoty FT<sub>3</sub>, ale normální sérové hladiny FT<sub>3</sub> lze často najít rovněž kvůli fyziologicky způsobenému zvýšení periferní konverze T<sub>4</sub>-T<sub>3</sub>.

Za určitých okolností (NTI, vyšší věk pacienta, vliv léků, apod.), lze periferní konverzi T<sub>4</sub>-T<sub>3</sub> snížit (nízký T<sub>3</sub> syndrom). Z tohoto důvodu lze subnormální sérové hladiny FT<sub>3</sub> rovněž pozorovat u pacientů s tyreoiditidou.

Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila svůj normální rozsah a patologické rozsahy sérových hladin FT<sub>3</sub> a další parametry funkce štítné žlázy. Toto umožní kontrolu dat poskytnutých výrobcem soupravy a rovněž indikuje případné regionální odchylky v sérových hladinách FT<sub>3</sub>. Navíc to poskytne vyhodnocení kvality výsledků získaných pomocí této soupravy.

Výše uvedené referenční rozsahy pro FT<sub>3</sub>-CTK mohou proto sloužit jako rychlý průvodce hodnot, které lze očekávat.

komplexu antigen-protilátka je nepřímo úměrná koncentraci neznačeného antigenu ve vzorku.

Po dokončení reakce se komplex antigen-protilátka (navázaná frakce B) oddělí od frakce volného antigenu - včetně volných molekul indikátoru. V soupravě FT<sub>3</sub>-CTK se separace dosáhne jednoduchým dekantováním nebo aspirací supernatantu. Nakonec se změří radioaktivita zkumavky (navázaná frakce B).

Použitím paralelně analyzovaných standardů (známých koncentrací neznačeného antigenu) se vytvoří profil koncentrace radioaktivity (standardní křivka). Úrovně radioaktivity sérových vzorků se poté použijí ke stanovení odpovídajících koncentrací antigenu.

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

Následující čidla soupravy obsahují konzervační látku azid sodný v koncentracích < 0,1 hmotnostních procent: indikátor, standarty a kontrolní séra. Tato čidla se nesmí požívat a je třeba zabránit kontaktu s kůží nebo sliznicemi.

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

Čidla a odpad vzniklý při analýze 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. Pierce J.G. and Parsons T.F.: Glycoprotein hormones: structure and function. Annual Review of Biochemistry (1981), 50, 465-495.
2. Ekins R.P.: Free hormones in blood: the concept and the measurement. Journal of Clinical Immunoassay (1984), 7, 163-180.
3. Surks M.I., Chopra I.J., Mariash C.N., Nicoloff J.T., Solomon D.H.: American Thyroid Association Guidelines for use of Laboratory tests in Thyroid Disorders. The Journal of the American Medical Association (1990), 263, 1529-1532.
4. Liewendahl K., Tikanoja H., Mahonen H., Helenius T., Valimaki M., Taligren L.G.: Concentrations of iodothyronines in serum of patients with chronic renal failure and other non-thyroidal illnesses: role of free fatty acids. Clinical Chemistry (1987), 33, 1382-1386.
5. Klee G.K.: Clinical usage recommendations and analytical performance goals for total and free triiodothyronine measurements. Clinical Chemistry (1996), 42:1, 155-159.

## Postup testu

### Schéma inkubace

1. Očísľujte	potažené zkusavky (a, b)	T	0	1-6	7 atd.
2. Napipetujte	nulový standard	µL	–	100	–
	standards	µL	–	–	100
	vzorky séra	µL	–	–	100
3. Napipetujte	indikátor A (připraveno k použití)	mL	1	1	1
4. Inkubujte		–	<b>2 hodiny na rotační třepačce (170-250 ot/min) při pokojové teplotě (17-27°C).</b>		
5. Aspirujte nebo dekantujte*		–	Supernatant zcela aspirujte nebo dekantujte a nechejte odkapat na savý papír.		
6. Změřte radioaktivitu (doporučený čas odečtu: 1 min)					

Výpočet výsledků

\* Není nutné promývání

### Manipulace se vzorky

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

Bilirubin a hemolýza nemají žádný vliv na výsledek testu. Lipemická séra se nesmí používat, protože lipemie má tendenci ukazovat nižší hodnoty.

Pokud vzorky séra nejsou analyzovány okamžitě, lze je uchovávat 3 dny při teplotě 2-8°C nebo déle při teplotě -20°C. Musí se zamezit opakovanému zmrazení a rozmrazení.

### 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. nenesie žádnou odpovědnost za přesnost výsledků.

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

Je nutné dodržet vyznačenou posloupnost jednotlivých kroků.

Vzorky pacientů o koncentraci vyšší než měřící rozsah se musí označit jako "> nevyšší standard". Výsledek se nesmí extrapolovat. Příslušný vzorek pacienta by měl být zředěn a znovu otestován. Další informace můžete získat od zákaznického oddělení společnosti DiaSorin S.p.A..

## Stabilita a skladovací podmínky

Všechna činidla a potažené zkusavky 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 lahviček. Doba použitelnosti soupravy je určena dobou použitelnosti indikátoru.

## Postup testu

Standards a sérové vzorky před použitím lehce promíchejte (zabraňte tvorbě pěny) a pipetujte, stejně jako ostatní činidla, při pokojové teplotě.

- Očísľujte vzestupně potažené zkusavky (duplikáty a, b). Zkusavky pro měření celkové radioaktivity označte štítkem T a, b.
- Do zkusavek 0 a, b až 6 a, b napipetujte **100 µL každého standardu** se stoupajícími pořadím koncentrací FT<sub>3</sub>. Do zkusavek 7 a, b, atd. napipetujte **100 µL každého séra pacienta nebo 100 µL kontrolního séra**.
- Do každé zkusavky, včetně T a, b, napipetujte **1 mL indikátoru A (připraveno k použití)**. Zkusavky T a, b jsou nyní ponechány odděleně až do změření radioaktivity (viz bod 6).
- Zkusavky přikryjte adhezivní fólií a inkubujte **na rotační třepačce (170-250 ot/min) po dobu 2 hodin při pokojové teplotě (17-27°C)**.
- Roztok ze všech zkusavek (kromě Ta, b) zcela aspirujte nebo dekantujte.**

**Poznámka** Při dekantování se musí zbylá tekutina odstranit tím, že zkusavky obrátíte dnem vzhůru na sací papír a ponecháte 10-20 minut. Poté odstraňte veškeré kapičky vyklepáním zkusavek do savého papíru.

Promývání není nutné.

- Změřte radioaktivitu každé zkusavky 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

- dávkovač (0,5-2,0 mL)
- mikropipety (100, 1000 µL)
- rotační třepačka
- odsávací zařízení s nastavitelnou distanční vložkou
- detektor záření gama

## Charakteristiky testu

### • Přesnost v rámci testů

Hodnoty pacientů uvedené níže byly určeny jako průměr 10 stanovení v jedné sérii analýzy.

Pacient	Průměr [pmol/L]	Standardní odchylka [pmol/L]	Variační koeficient (%)
1	2,0	0,2	8,8
2	6,5	0,3	5,1
3	21,9	1,1	5,0

### • Přesnost mezi testy

Hodnoty pacientů uvedené níže byly určeny v opakovacích zkouškách při 10 stanoveních.

Pacient	Průměr [pmol/L]	Standardní odchylka [pmol/L]	Variační koeficient (%)
1	2,4	0,2	7,6
2	6,9	0,3	4,4
3	16,5	1,1	6,9

## Výpočet výsledku

Pro počítačové vyhodnocení FT<sub>3</sub>-CTK je třeba vybrat hodnotící program (splines/unsmoothed), který vyhovuje specifické kombinaci procesoru a použitého měřicího zařízení.

Při počítání výsledků FT<sub>3</sub>-CTK bez použití počítače se musí průměrná četnost pulsů každé zkumavky (B) vztáhnout k průměrné četnosti pulsů nulového standardu (B<sub>0</sub>). Výsledky se musí vyjádřit poměrem B/B<sub>0</sub> (%).

V případě nulového standardu B/B<sub>0</sub> = 100%.

Použitím lineárního logaritmického milimetrového papíru se průměrná procentní hodnota každého standardu (druhá souřadnice, lineární) vynese do grafu vůči odpovídající koncentraci FT<sub>3</sub> (první souřadnice, logaritmická) za účelem získání standardní křivky. Průměrné procentní hodnoty B/B<sub>0</sub> sérových vzorků se poté použijí ke stanovení odpovídajících koncentrací FT<sub>3</sub> v jednotkách pmol/L nebo pg/mL.

**Převodní faktor: pmol/L x 0,651 = pg/mL**

Pro stanovení vazebné kapacity protilátky FT<sub>3</sub> se vypočítá poměr průměrné četnosti nulového standardu (B<sub>0</sub>) a celkové aktivity (T):

$$\frac{B_0}{T} (\%) = \frac{\text{průměrná četnost pulsů } 0 \text{ a, b}}{\text{průměrná četnost pulsů } T \text{ a, b}} \times 100$$

Za daných podmínek analýzy by se měl poměr B<sub>0</sub>/T pohybovat v rozmezí 30 až 50%.

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

### Příklad výpočtu

Zkumavky	CPM (a)	CPM (b)	CPM (průměr)	B/B <sub>0</sub> (%)
Celková aktivita T	34 750	34 919	34 835	–
Nulový standard	15 500	15 137	15 319	100
Standard 1 [1,1 pmol/L]	13 505	13 590	13 548	88
Standard 2 [2,2 pmol/L]	11 769	12 093	11 931	78
Standard 3 [4,4 pmol/L]	9 198	9 552	9 375	61
Standard 4 [8,8 pmol/L]	6 859	6 892	6 876	45
Standard 5 [17,6 pmol/L]	4 192	4 101	4 147	27
Standard 6 [35,2 pmol/L]	2 373	2 468	2 421	16
Vzorek séra 7	8 667	8 482	8 575	56

### • Senzitivita

**Analytická** senzitivita odvozena z optimální křivky je **0,73 pmol/mL**. Tato hodnota se vypočítala jako průměr 40 stanovení nulového standardu použitím následujícího vzorce:  $x \text{ cpm} + 2 \text{ s odchylka v cpm}$  (počet odčítacích impulzů za minutu).

Senzitivita **funkční** analýzy (20% variační koeficient mezitesty) je **1,5 pmol/mL**.

### • Zkřížená reaktivita

Látka	Zkřížená reaktivita v %
3,3', 5'-triiodo-L-tyronin	0,14
L-diiiodotyrosin	< 0,001
L-monoiodotyrosin	0,001
L-tyronin	< 0,001
L-tyrosin	< 0,001
3', 5'-diiiodo-L-tyronin	< 0,001
3,5-diiiodo-L-tyronin	0,17
3,3', 5,5'-tetraiodo-L-tyronin	0,07
Etyl 2-(4-chlorofenoxy)-2 metylpropionát	< 0,001
Kyselina anilinaftalensulfonová	< 0,001

Výpočet vazebné kapacity:

$$\frac{B_0}{T} = \frac{15\,319}{34\,835} \times 100 = 44,0\%$$

Výpočet koncentrace FT<sub>3</sub> vzorku 7:

$$\frac{B_7}{B_0} = \frac{8\,575}{15\,319} \times 100 = 56,0\% \text{ resp. } 5,5 \text{ pmol FT}_3/\text{L (3,6 pg/mL)}$$

### Standardní křivka

