

PATHOZYME® TOTAL TRIIODOTHYRONINE ^{Ref} OD367

Test ImunoEnzimatic (EIA) pentru detecția T3 în serul uman.

Depozitați la 2°C - 8°C. NU CONGELAȚI

Doar pentru diagnostic in-vitro.

INTRODUCERE

Triiodotironina (3,5,3'-triiodo-L-tironină, T3) și Tiroxina (T4) sunt doi hormoni activi prezenți în fluxul sanguin. Aproximativ 20% din T3 circulant este derivat din sinteza directă și secreția glandei tiroide, în timp ce 80% este produs prin de-iodinarea T4 în țesuturile periferice. T3 este transportat în fluxul sanguin periferic, în principal legat de proteinele serice, specific de Globulina de Legare a Tiroxinei (TBG), PreAlbumina de Legare a Tiroidei (TBPA) și Albumină. Doar aproximativ 0,3% din T3 serică totală este nelegat și liber să difuzeze în țesuturi pentru a-și exercita efectul biologic. T3 are o influență în principal asupra ratei de consum a oxigenului și producerii de căldură în aproape toate țesuturile. Hormonul joacă un rol critic și în creștere, dezvoltarea și maturarea sexuală la mamifere în perioada de creștere.

T3 seric total este un parametru folosit în diferențierea și diagnosticul clinic al bolii tiroideiene, în special al hipertiroidismului. La cei mai mulți pacienți hipertiroideieni sunt crescute nivelurile atât de T3 cit și de T4. Aproximativ 5-10% din toate cazurile de hipertiroidism, au concentrații mari de T3 însoțite de concentrații normale de T4, situație cunoscută sub numele de T3-tirotoxicoză. Din acest motiv este vital să stabilim că nivelurile de T3 sunt normale înainte de a exclude diagnosticul hipertiroidism. Nivelurile serice de T3 sunt de asemenea și un excelent indicator al abilității tiroidei de a răspunde la testul de stimulare și supresie.

Testul ImunoEnzimatic **PATHOZYME T3** oferă o metodă rapidă și sensibilă pentru măsurarea T3 în serul fără extracție, folosind anticorpi T3 și Conjugat T3 cu enzimă marcată.

UTILIZARE

Este un test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a triiodotironiniei (T3) în serul uman. A fi folosit doar de personalul medical.

PRINCIPUL TESTULUI

Anticorpii de capră contra anticorpii de șoarece IgG sunt fixați de godeurile plăcii de microtitrare. Serurile de testat sunt pipetate în godeuri împreună cu Reactivul Anticorp. Se adaugă Conjugatul T3 enzimă care intră în competiție cu T3 seric pentru legarea de site-urile de legare disponibile de la nivelul fazei solide. După incubare, godeurile sunt spălate pentru a îndepărta orice T3 sau Conjugat T3 enzimă nelegate. După adăugarea Substratului (TMB) apare o culoare doar în acele godeuri în care este prezentă enzima, ceea ce indică absența T3 seric. Reacția este oprită prin adăugarea acid clorhidric diluat iar absorbanta este apoi măsurată la 450nm. Acest test a fost calibrat cu standarde interne. Nu există Standarde Internaționale pentru acest test.

CONȚINUT

^{Ref}
OD367



Microtitre Plate	12 x 8 godeuri x 1
Godeuri detașabile "căptușite" cu anticorpi specifici, conținute într-o pungă resigilabilă de folie care conține și un desiccant.	
Cal A 0 ng/ml	1ml
Standard Referință: Ser uman fără T3. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal B 0.75ng/ml	1ml
Standard Referință: T3 diluat în ser uman. Gata de lucru (Incolor)	
Cal C 1.5ng/ml	1ml
Standard Referință: T3 diluat în ser uman. Gata de lucru (Incolor)	
Cal D 3.0ng/ml	1ml
Standard Referință: T3 diluat în ser uman. Gata de lucru (Incolor)	
Cal E 6.0ng/ml	1ml
Standard Referință: T3 diluat în ser uman. Gata de lucru (Incolor)	
Cal F 10 ng/ml	1ml
Standard Referință: T3 diluat în ser uman. Gata de lucru (Incolor)	
Washbuf 20 X	50ml
Tampon de spălare concentrat: Tampon Tris care conține detergenți. (Incolor)	
Ab REAG	7ml
Anticorpi de șoarece anti T3. Gata de lucru (Roz)	
Conj 11 X	1.3 ml
Conjugat T3 HRP concentrat: T3 conjugat cu peroxidază hrean. (Incolor)	
DIL Conj	12 ml
Diluent Conjugat: Tampon fosfat conținând proteine de stabilizare. Gata de lucru (Verde)	
Subs TMB	11 ml
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)	
Soln Stop HCl 1M	11ml
Soluție Stopare: Acid clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (Incolor)	
Broșură instrucțiuni și Fișa de înregistrare date EIA	

MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100µl, 200µl, 1000µl și 5000µl
Vîrfuri de pipetă de unică folosință
Hîrtie absorbantă
Cîlitör de microplăci cu filtru de 450nm
Hîrtie milimetrică
Sticlărie de laborator foarte curată.

PRECAUȚIUNI

PATHOZYME T3 conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV I și II și pentru HbsAg, la nivel de donor unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o garanție completă că produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atît în timpul utilizării cit și cînd sunt deșeuri. Nu ingerați.

Reactivii **PATHOZYME T3** nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic atît cînd sunt folosite cit și cînd sunt deșeuri. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare **PATHOZYME T3** este acid clorhidric diluat și este deci corozivă. Manipulați cu grijă. În caz de contact cu tegumentul spălați cu grijă cu apă.

Reactivii **PATHOZYME T3** conțin Proclin™ 300* în concentrație de 1% ca și conservant. Este toxică atunci cînd este ingerată. În caz de contact, spălați bine cu apă de la robinet și consultați un medic.

* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată a ROHM & HAAS Limited.

DEPOZITARE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată pînă la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV (cu excepția depozitării standardelor) deoarece acesta va fi iremediabil alterat.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Recoltați o probă de sînge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sînge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt.

Nu folosiți pentru testare ser hemolizat, contaminat sau lipemic deoarece aceasta va influența nedorit rezultatele.

Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de 1 an. Probele decongelate trebuie amestecate bine înainte de a fi utilizate.

Nu folosiți ca și conservant Azida sodică deoarece aceasta va inhiba sistemul enzimatic Peroxidază.

Nu congelați-decongelați în mod repetat probele - veți obține rezultate false.

PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor înainte de utilizare. Evitați formarea spumei.

Conjugat: Diluați conjugatul concentrat folosind o parte de conjugat concentrat cu 10 părți de diluent conjugat, de ex. Adăugați 0,1ml de conjugat concentrat la 1,0ml de diluent conjugat. Aceasta trebuie făcut cu 20 de minute înainte de inițierea testării. Asigurați-vă că soluția conjugat diluată se află la temperatura camerei. Evitați formarea spumei. Folosiți în decurs de 24 de ore.

Tampon Spălare: Diluați Tamponul de Spălare concentrat folosind o parte de Tampon Spălare concentrat cu 19 părți de apă distilată. Pentru fiecare sîrp de 8 godeuri, pregătiți 25 ml de Tampon Spălare diluat adăugînd 1,25ml de Tampon Spălare concentrat la 23,75ml de apă distilată. Pregătiți Tampon de Spălare proaspăt diluat pentru fiecare rulare de teste. În kit este livrat Tampon de Spălare suplimentar pentru a putea amorsa spălătorului automat de microplăci.

Procedura de spălare este critică pentru rezultatul testului. O spălare insuficientă va determina o slabă precizie și rezultate fals crescute pentru absorbanta.

LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor tipuri de probe, altele decît serul nu a fost validată pentru acest test. Nu există protocol de reutilizare pentru acest produs.

Atunci cînd faceți interpretarea testului este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie să fie stabilit doar pe baza rezultatelor unui singur test clinic.

PROCEDURA DE TESTARE

- Aduceți toate componentele kit-ului și serul de testat la temperatura camerei (20°C-25°C) înainte de a începe testarea.
- Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare procesare de probe. Fixați numărul dorit de godeuri în stativ. Înregistrați poziția standardelor și a serului de testat pe fișa de înregistrare a Datelor EIA.
- Stripurile nefolosite trebuie resigilate în punga de folie conținînd desiccant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
- Pipetați 50µl de Standarde și Seruri de Testat în godeurile stabilite.
- Pipetați 50µl de Reactiv Anticorp în fiecare godeu.
- Amestecați bine 30 de secunde. Este foarte important ca în această etapă să realizați un bun amestec.

7. Pipetați 100μl conjugat gata de lucru în fiecare godeu. Amestecați bine 30 de secunde.
8. Incubați 60 de minute la temperatura camerei (20 C-25 C).
9. La sfârșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșeuri cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hirtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeuri să se afle un dezinfectant corespunzător.
10. Spălare Manuală. Umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu. Înțoarceți brusc placa deasupra recipientului de deșeuri biologice. Loviți placa de hirtie absorbantă. Spălați godeurile goale de 5 ori.
11. Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
12. Spălare Automată: controlați ca 300μl de apă distilată să fie pipetați în fiecare godeu și ca în recipientul cu deșeuri să fie adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile de 5 ori. După ce spălați, îndepărtați excesul de lichid lovind placa inversată de o hirtie absorbantă.
13. Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 5 secunde.
14. Incubați în întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20 C-25 C).
15. Opriți reacția adăugând 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu.
16. Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă a culorii albastre în galben.
17. Citiți imediat densitatea optică (pină în 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucișată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece se poate produce contaminare.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20° - 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blînde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

CALCULAREA REZULTATELOR

Calculați valoarea absorbantei medii (A_{450}) pentru fiecare set de standarde și probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbanta medie pentru fiecare Standard în funcție de concentrația în ng/ml pe hirtie milimetrică, cu valorile absorbantei pe axa Y și concentrațiile pe axa X. Folosiți valorile absorbantei medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de T3 în ng/ml din curba standard.

Dacă nivelurile Calibratorilor sau ale probelor cu valori cunoscute nu dau rezultatele scontate, rezultatele testului trebuie considerate invalide. Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Graficul produs de calibratori trebuie să aibă o formă hiperbolică cu densitatea optică (DO) citită la 450 nm invers proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mare de 1,5 iar DO a calibratorului F mai mare de 0,75 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Folosind probe selectate aleator de la o policlinică, domeniul normal al T3 este de 0,8-1,9 ng/ml. Concentrația minim detectabilă a T3 de către **PATHOZYME T3** este estimată a fi de 0,2 ng/ml.

DATE DE EVALUARE

Calibrat cu competitorii importanți și cu standarde interne. Coeficientul de variație **PATHOZYME T3** este mai mic decît sau egal cu 10%.

La o evaluare dintre kit-ul **PATHOZYME T3** și kit-ul AxSym Total T3 produs de Abbott pentru probe cuprinse între 0,32 și 5,9 ng/ml au fost generate următoarele date:

Număr de Probe	67
Coeficient de Corelație	0,906
Pantă	0,0920
Intercept	- 0,229
Medie Omega	1,24 ng/ml
Medie Abbott	0,91 ng/ml

La o evaluare dintre kit-ul **PATHOZYME T3** și kit-ul Total T3 produs de Monobind, pentru probe cu niveluri cuprinse între 0,14 și 6,2 ng/ml au fost generate următoarele date:

Număr de Probe	80
Coeficient de Corelație	0,993
Pantă	1,004
Intercept	- 0,084
Medie Omega	1,21 ng/ml
Medie Monobind	1,13 ng/ml

Ambele studii au arătat o bună corelație între kit-uri.

BIBLIOGRAFIE

- (1) Walker, W. H. O. Introduction: An approach to Immunoassay. *Clin. Chem.* 1977;23:384.
- (2) Kirkegaard, C., Friis, T. and Siersback-Nielsen, K. *Acta Endocrinol.* 1974;77:71.
- (3) Wisdom, G. B. Enzyme-Immunoassay. *Clin. Chem.* 1976;22:1243.
- (4) Hoffenberg, R. *Medicine.* 1978;8:392.
- (5) Lieblisch, J., Utiger, R. D. *J. Clin. Invest.* 1972;51:1939.
- (6) Larson, P. R. Triiodothyronine: Review of Recent Studies of its Physiology and Pathophysiology in Man. *Metabolism.* 21,1073-1092(1972).

GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

1. Pipetați 50μl de Ser de Testat, Controale sau Standarde.
2. Pipetați 50μl de Reactiv Anticorpi în fiecare godeu și amestecați bine 30 de secunde.
3. Pipetați 100μl de conjugat gata de lucru în fiecare godeu și amestecați bine 30 de secunde.
4. Incubați 60 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
5. Aruncați conținutul godeurilor și spălați de 5 ori cu tampon de spălare.
6. Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu. Amestecați ușor 5 secunde.
7. Incubați 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
8. Adăugați 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați bine timp de 30 de secunde.
9. Citiți imediat Densitatea optică (dar nu peste 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu filtru de 450nm.

8086 ISSUE 8 Revised October 2005 **ROMANIAN**
©Omega Diagnostics Ltd., 2005



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY