

PATHOZYME[®] FREE TRIIODOTHYRONINE Ref OD457

Test ImunoEnzimatic pentru determinarea cantitativă a FT3 în serul uman

Depozitați la 2°C - 8°C . NU CONGELAȚI.

Doar pentru diagnostic in-vitro.

INTRODUCERE

L-tri-iodotironina este un hormon tiroidian, care circulă în curentul sanguin aproape complet legat (>99.5%) de proteine de transport. Principala proteină de transport este globulina de legare a tiroxinei (TBG). Cu toate acestea, doar porțiunea liberă (nelegată) a tri-iodotironinei este responsabilă pentru acțiunea biologică. Mai mult, concentrațiile proteinelor de transport se modifică în multe stări clinice, ca de exemplu în sarcină. La indivizii cu funcție tiroidiană normală, pe măsură ce concentrațiile proteinelor de transport se modifică, nivelurile totale de T3 se modifică de asemenea, în așa fel încât concentrația de tri-iodotironină liberă rămâne constantă. Astfel, măsurarea concentrațiilor de FT3 se corelează mai corect cu starea clinică decât o face nivelul total de tri-iodotironină.

De exemplu, creșterea nivelurilor de tri-iodotironină totală asociată cu sarcina, contraceptivele orale și terapia estrogenică vor determina o creștere mai mare a nivelurilor de T3 total în timp ce concentrația de FT3 rămâne de fapt neschimbată.

Testul PATHOZYME FREE T3 imunoenzimatic oferă o metodă rapidă și sensibilă pentru măsurarea T3 în serul ne-extras folosind anticorpi T3 și conjugat marcat cu enzimă.

UTILIZARE

PATHOZYME FREE T3 este un test imunoenzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a tri-iodotironinei libere (FT3) în serul uman.

A fi folosiți doar de personalul medical.

PRINCIPIUL TESTULUI

Testul FT3 este un test imunoenzimatic competitiv de fază solidă. Probele de ser de la pacienți, standardele, conjugatul T3 enzimă sunt adăugate în godeuri de care sunt fixați anticorpi monoclonali T3. FT3 din probă și conjugatul T3 marcat sunt în competiție pentru a se lega de situsurile disponibile de pe anticorpi. După incubare la temperatura camerei, godeurile sunt spălate cu apă pentru a îndepărta conjugatul T3 nelegat. La adăugarea substratului (TMB), apare o culoare doar în acele godeuri în care enzima este prezentă, ceea ce arată că serul nu conține FT3. Reacția este oprită prin adăugarea acidului clorhidric diluat, iar absorbanta este citită la 450nm. Testul a fost calibrat cu standarde interne. Nu există standarde internaționale pentru acest test.

CONȚINUT

Ref
OD457



Microtitre Plate		12 x 8 godeuri x 1
Godeuri detașabile "căptușite" cu anticorpi specifici conținuți într-o pungă de folie ce conține un desicant.		
Cal	A	0 ng/ml
Standard Referință: Ser uman fără T3 liber. Gata de lucru. (Incolor)		
Cal	B	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: T3 liber diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)		
Cal	C	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: T3 liber diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)		
Cal	D	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: T3 liber diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)		
Cal	E	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: T3 liber diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)		
Cal	F	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: T3 liber diluat în ser uman. Gata de lucru. (incolor)		
Conj		10.5ml
Conjugat T3 HRP: T3 conjugat de peroxidază hrean. Gata de lucru. (roz)		
Subs	TMB	11ml
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)		
Soln	Stop	HCl
		1M
Soluție de Stopare: Acid Clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (Incolor)		
Broșură de instrucțiuni și fișa de date EIA.		

MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

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

PRECAUȚIUNI

PATHOZYME FREE T3 conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV 1 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 atât în timpul utilizării cit și sunt deșeuri. Nu ingerați.

Reactivii PATHOZYME FREE 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 atât când sunt folosite cit și când sunt

deșeuri. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare PATHOZYME FREE 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 FREE 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.

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 desicant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
- Pipetați 50μl de Standarde, Controla și ser de testat în godeurile stabilite.
- Pipetați 100μl de Conjugat Anti-FT3 în fiecare godeu. Amestecați prin rotire 20-30 de secunde și acoperiți.
- Incubați 60 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
- La sfîrșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnînd 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 hîrtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeuri să se afle un dezinfectant corespunzător.
- Spălare Manuală. Umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu. Întoarceți brusc placa deasupra recipientului de deșeuri biologice. Loviți placa de hîrtie absorbantă. Spălați godeurile goale de 5 ori.
- Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hîrtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
- 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 hîrtie absorbantă.
- Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu
- Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
- Opriti reacția adăugînd 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu.
- Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă a culorii albastre în galben.
- Citiți imediat densitatea optică (pînă 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 blinde 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_{550}) pentru fiecare set de Standarde de Referință și pentru probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbanta medie pentru fiecare Standard de Referință în funcție de concentrația în pg/ml pe hîrtie 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 FT3 în pg/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 mică de 0,75 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Folosind probe aleatorii recoltate într-o policlinică, domeniul normal al FT3 este de 1,4 – 4,2 pg/ml. Concentrația minim detectabilă de FT3 calculată cu **PATHOZYME FREE T3** este estimată a fi de 0,05 pg/ml.

Substanță	Reactivitate încrucișată (%) la echivalentul de 10µg/ml Triiodotironină
Tiroxină	< 0,0002
Iodotirozină	< 0,0001
Diiodotirozină	< 0,0001
Diiodotironină	< 0,0001
Fenilbutazonă	< 0,0001
Salicilat Sodiu	< 0,0001

DATE DE EVALUARE

Rezultate calibrate competitori importanți și cu standarde interne.

Coeфициentul de variație al **PATHOZYME FREE T3** este mai mic sau egal cu 10%.

La o evaluare dintre kit-ul **PATHOZYME FREE T3** și o metodă analogă de radio-imuno-testare (RIA) pentru probe cu niveluri cuprinse între 0,1 și 14 pg/ml au fost generate următoarele date.

Număr de probe	85
Coeфициent de corelație	0,955
Pantă	0,925
Intercept	0,15
Medie Omega	3,4 pg/ml
Medie RIA	3,5 pg/ml

Aceste kit-uri au o bună corelație.

BIBLIOGRAFIE

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry 2nd Ed., p602, Saunders Press, Phila. 1976.
2. Horworth, P.J.N., Ward, R.L. J.Clin.Pathol. 1972; 25:259-62.
3. Sati, C., Chatter, A.J., Watts, N. Fundamentals of Clinical Chemistry. Ed. Tietz, N.W. 3rd Ed. P586. Saunders Press Phila. 1987.
4. Lundberg, P.A., Jagenburg, R., Lindstedt, G., Nystrom, E. Clin. Chem. 1982; 28:1241.
5. Melmed, S., Geola, F.L., Reed, A.W., Pekary, A.E., Park, J., Hershmen, J.M. Clin. Endocrin. Metabol. 1982; 54:300.
6. Ingbar, S.H. et al. J. Clin. Invest. 1965; 44:1679.
7. Selenkow, H.A., and Robin, N.I. J. Maine Med. Assoc. 1970; 61:199.
8. Oppenheimer, J.H. et al. J. Clin. Invest. 1962; 42:1769.
9. Dick, M., Watson, F. Med. J. Aust. 1980; 1:115.
10. Dussault, J.H., Turcotte, R., and Gieyda, H. Clin. Endocrin. Metabol. 1976; 43:232-285.
11. Tamoky, A.L. Advan. Clin. Chem. 1981; 21:101-146.
12. Emrich, D., Schondube, H., Sehlen, S., and Schreivagel, I. Nuc. Compact. 1985; 16:392.
13. Procedures for Decontamination of Plumbing Systems Containing Copper and/or Lead azides, Dept. of H.E.W. N.I.O.S.H. Rockville, Maryland, 1976.

GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

1. Pipetați 50µl de Standard sau probe în fiecare godeu.
2. Pipetați 100µl de Conjugat în fiecare godeu și amestecați bine 30 de secunde.
3. Incubați timp de 60 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
4. Aruncați conținutul godeurilor și spălați de cinci ori cu apă distilată.
5. Adăugați 100µl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați bine timp de 5 secunde.
6. Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
7. **Adăugați 100µl de Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 30 de secunde.**
8. **Citiți imediat (nu mai târziu de 10 minute) densitatea optică folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.**

8118 ISSUE 5A Revised February 2011 ROMANIAN
© Omega Diagnostics Ltd., 2011



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