

T3 (RIA)

کیت تشخیصی رادیوایمونواسی تری یدوتیروئین

مقدمه:

3.5.3 فرمول ساختمانی هورمون تیروتوکسیکوزیس یا تری یدوتیروئین می باشد. این هورمون یکی از اجزای تشکیل دهنده چرخه سیستم هورمونی تیروئید میباشد که در سال 1952 که توسط گراس و پیت ریورس شناسایی شدند. این روش از صحت، حساسیت، تکرارپذیری، سرعت و اختصاصیت کافی برخوردار است. این هورمون تحت تأثیر ی محرکی از هیپوفیز قدامی بنام *TSH* که خود یک هورمون تحت تأثیر هورمون دیگری از غده هیپوتالاموس بنام *TRH* است، ترشح می شود. سیستم غده تیروئید دارای قیدبک منفی می باشد که تحت تأثیر میزان آزاد بودن یا فرم فعال این هورمون ها در جریان خون می باشد. این هورمون به تنهایی در خون حمل نمی شود بلکه به یک حامل پروتئینی بنام تیروکسین باندینگ گلوبولین (*TBG*) نیاز دارد البته در کنار این حامل پروتئینی ، آلبومین و پره آلبومین هم دخیل هستند.

اساس روش اندازه گیری:

کیت رادیوایمونواسی سنجنش *T3* از نوع رقابتی می باشد. *T3* موجود در نمونه ها برای اتصال به آنتی پلی کلونال خرگوشی *COAT* شده در انتهای لوله ها با *T3* یددار نشاندار شده *I 125* به رقابت می پردازد. میزان فرم اکتیوئیت موجود در لوله با غلظت *T3* نمونه رابطه معکوس دارد. استانداردهای *T3* با غلظت مشخص همراه با نمونه های مجهول آزمایش می شوند که براساس منحنی استاندارد مقدار شمارش در مقابل غلظت *T3*، غلظت نمونه های مجهول بدست می آید.

محتویات کیت:

Kit Contents	Quantity (100T)
1. Coated Tubes Main : Anti - T3 antibody (rabbit) Diluent solution : PBS Protein Stabilizer : BSA	100 Tubes (50EA/Rack×2)
2. I 125 Tracer Main: Triiodothyronine (T3) Antigen Labelled with I 125 Diluent solution : BSA - Tris HCL Preservative : Sodium Azide	20ml×1 vial Radioactivity 185 KBq (Ready to use)
3. Standards : (Range: 0, 0.5 ,1 ,2 ,4 ,8 ng/ml) Main : T3 of each concentration Diluent solution : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	0.5 ml × 6 vials (Ready to use)
4. Control Serum Main : animal serum of 0.5-1.5 ng/ml T3 Diluent solution : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	0.5 ml × 1 vials (Ready to use)

نکات قابل توجه:

1. در این کیت از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر *HBS AG* و *HIV* منفی می باشند.
2. از استفاده مواد بعد از تاریخ انقضاء خود داری فرمائید.
3. از مخلوط کردن با کیت های تاریخ گذشته اجتناب ورزید.
4. درب ظروف را بدرستی بر روی ویال خود ببندید.
5. از لباس و دستکش یکبار مصرف برای کار با مواد رادیو اکتیو استفاده کنید.
6. لوازم آزمایشگاهی آلوده به مواد رادیو اکتیوئیت را به وسیله روش های مراقبت در برابر اشعه و روش های ایمن شستشو و پسماند نمایید.
7. معرف ها باید قبل از مصرف به دمای اتاق یا محیط برسند.

تهیه و جمع آوری نمونه:

این تست را میتوان مستقیم بر روی نمونه های سرم انسانی یا پلاسما انجام داد ولی تأکید می شود که از انجام آزمایش بر روی نمونه های سرمی همولیز و ایکتریک و لیپمیک خود داری فرمائید. اگر قرار است آزمایش در طی 2-3 روز بعد انجام شود بهتر است در یخچال در دماهای 2-8 درجه سانتیگراد و اگر برای اهداف طولانی مدت 10-15 روز می باشد باید در دمای 20- درجه سانتیگراد نگهداری شود. مطمئن باشید که در نمونه پلاسما شما رشته های فیبرین وجود نداشته باشند چرا که وجود آنها سبب ایجاد تداخل در روند واکنشی آزمایش شده و جوابهای کاذب را فراهم خواهد کرد برای رفع این مشکل حتما یک بار با اپلیکاتور به آرامی بهم زده و مجدداً سانتریفیوژ نمایید.

محاسبه نتایج:

- 1- با استفاده از میانگین شمارش استانداردها (محور *Y*) و غلظت مشخص آنها (محور *X*) بر روی کاغذ میلیمتری ، منحنی استاندارد رسم کنید.
- 2- میانگین شمارش برای هر نمونه را بدست آورید و روی محور *Y* جای آنرا پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی استاندارد وصل کنید از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور *X* ها ایجاد می شود که بیانگر میزان غلظت نمونه است.

مقادیر طبیعی:

بدلیل اختلاف سنی و نژادی و رژیم تغذیه ای برای تمام جمعیت ها محدوده مرجع نمیتوان تعیین کرد. هر آزمایشگاهی خود باید دارای محدوده مرجع باشد. مقادیر طبیعی در سرم افراد نرمال که توسط آزمایشهای مکرر به روش رادیو ایمونواسی بدست آمده است به قرار زیر است:

محدوده طبیعی: $0.6 - 2.2 \text{ ng/ml}$

برای تبدیل واحدها:

$$\begin{aligned} \text{ng/ml} \times 100 &= \text{ng/dl} \\ \text{ng/ml} \times 1.536 &= \text{nmol/l} \\ \text{nmol/l} \times 0.651 &= \text{ng/ml} \end{aligned}$$

حساسیت:

با رقیق سازی متوالی استاندارد 0/5 با سرم صفر ، حساسیت این کیت برای تعیین هورمون *T3* برابر 0.08 ng/ml است.

اختصاصی بودن:

روش حاضر واکنش های *cross-reaction* با ال-تری یدوتیروئین به میزان 0.2% و تا 0.12% با 5 دی یدو ال تیروئین - 0.15% با ال -تیروکسین و 0.02% با 3 یدو ال تیروئین.

دقت:

برای محاسبه میزان دقت در یک روز و روزهای متوالی 3 نمونه سرم را 20 مرتبه تکرار می کند.

Serum	Intra assay		Inter assay		Repliates NO
	Mean ± SD (ng/ml)	C.V (%)	Mean ± SD (ng/ml)	C.V (%)	
1	0.65 ± 0.13	5.45	0.63 ± 0.12	5.56	20
2	1.82 ± 0.36	5.31	1.85 ± 0.37	8.93	
3	4.54 ± 0.91	5.76	4.62 ± 0.92	7.18	

$$*C.V(\%) = S.D \text{ of sample (ng/ml) / Mean of Sample (ng/ml)} \times 100$$

صحت:

Serum	T3 Std (ng/ml)	Added (ng/ml)	Expected Value (ng/ml)	Calculated Value (ng/ml)	Recovery (%)
A	0.5	0.71	0.60	0.59	96.3
		2.91	1.70	1.57	92.3
		5.82	3.16	2.91	92.0
B	2.0	0.71	1.35	1.31	98.1
		2.91	2.45	2.43	101.2
		5.82	3.91	4.00	97.1

$$*Recovery(\%) = \text{Measured value (ng/ml)} / \text{Expected value (ng/ml)} \times 100$$

محاسبه درصد اکتیویتی استاندارد و نمونه:

برای محاسبه درصد اتصال رادیو اکتیوئیت کنترل، استاندارد و نمونه ها از فرمول زیر محاسبه می شوند:

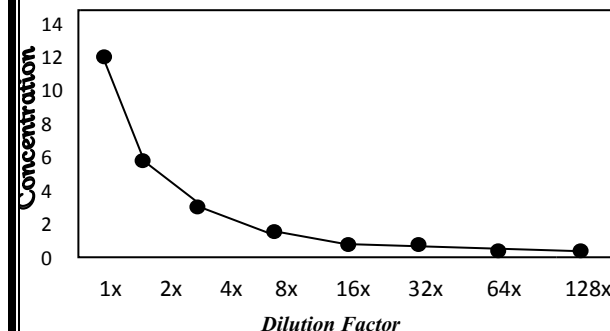
Description	CPM	B/B0 (%)	Conc. (ng/ml)
Total Activity	74139		
Std 1	0 ng/ml	22823	100
Std 2	0.5 ng/ml	18046	79.0
Std 3	1.0 ng/ml	15037	65.8
Std 4	2.0 ng/ml	11824	51.8
Std 5	4.0 ng/ml	7815	34.2
Std 6	8.0 ng/ml	4842	21.2
Control Serum	13162	57.6	1.58
Sample 1	16749	73.3	0.71
Sample 2	9856	43.1	2.98

$$*B0/T(\%) = \text{Std 0 cpm} / \text{Total Activity (cpm)} \times 100$$

$$*B/Bmax(\%) = \text{Std 0 or Sample (cpm)} / B0 \times 100$$

خطی بودن تست:
















Diluted Portion	Conc. (ng/ml)
Undiluted	12.29
1:2	6.16
1:4	3.07
1:8	1.53
1:16	0.74
1:32	0.33
1:64	0.17
1:128	0.10



Dilution Factor

References :

- 1 Chopra I.J. -J. Clin. Invest. 54:583, 1974.
- 2 Chopra I.J., Sack J. and Fischer D.A. -J. Clin. Invest. 55:1137, 1975.
- 3 Meinhold M., Schurnbrand P. and K.W. Wenzel -Acta Endocrinol. Suppl. 199, 343, 1975.
- 4 Vagenakis A.G. et al. -J. Clin. Endocrinol. Metab. 41:191, 1975.
- 5 Janni A. et al. -«The low T3 syndrome» Academic Press, 1980.
- 6 Janni A. et al. -Atti del IV Simposio Internazionale delle Tecniche Radioisotopiche in vitro, Napoli 1977.
- 7 Osathanonda R. et al. -J. Clin. Endocrinol. Metab. 46:365, 1978.
- 8 Roller E. -Descrizione parametrica della curva dose-risposta. Giorn. It. Chim. Clin. 2 (1), 1-13-1977.
- 9 Roller E. et al. -Automatic treatment of radioimmunoassay data. The Journal of Nuclear Biology and Medicine. Vol. 17. n. 3. pag.128-141. 1973.

	Used by		Batch code
	Temperature limitation		Control
	Caution, consult accompanying documents		Standard
	Biological risk		Coated Tube
	Consult instructions for use		Tracer
	In vitro diagnostic medical device		Wash Buffer
	Manufacturer		Radioactive material
	Catalogue number		

آدرس کارخانه :

شهرک صنعتی اشتهارد - بلوار ابوریحان بیرونی - بلوار غزالی غربی - لادن 2
 - شرکت پادیاپ طب
 تلفن : 026 - 37775532-9
 فکس : 026 - 37775529
 پشتیبانی فنی : 09128930048

دفتر مرکزی: تهران - 24 متری سعادت آباد - خیابان یکم شرقی - خیابان شب
 بو شرقی - پلاک 17 - طبقه 2

آدرس اینترنتی : www.padyabteb.com

ایمیل شرکت : info@padyabteb.com



شرکت پادیاپ طب
 تلفن سوالات فنی : ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸



تخلیه محتویات لوله ها

⑤ محتویات لوله ها را از طریق وارونه کردن یا مکش تخلیه کنید. (به جز لوله توتال)

⑥ 3 مرتبه شستشو با آب مقطر ترجیحاً استریل به حجم 2-3 میلی لیتر . 1 دقیقه منتظر مانده و سپس خوانش را انجام دهید.



Gamma Counter Machine

⑦ با استفاده از دستگاه گاما کانتر ظرف مدت 1 دقیقه اکتیویته موجود در لوله ها خوانده

روش کار:

① تعداد لوله های کوت شده را برای استاندارد، کنترل و نمونه دوپل یا دوتایی قرار دهید. برای شمارش تام از لوله های معمولی استفاده می شود.

② از استاندارد، کنترل و نمونه 25λ اضافه می کنیم. (به جز لوله توتال)

③ از ردیاب یا Tracer 200λ را به تمام لوله ها اضافه می کنیم.

④ حبابگیری : لوله ها را به آرامی به مدت 15 ثانیه تکان داده تا محتویات به خوبی مخلوط شوند و سپس لوله ها را به مدت 30 دقیقه در حرارت اتاق بر روی شیکر 200rpm انکوبه نمایید.

30 دقیقه بر روی شیکر 200 rpm