

НАБОР СТ₃ [I-125] RIA

(Номер по каталогу: RK-339CT)

Набор СТ₃ [I-125] RIA позволяет проводить количественное определение *in vitro* свободного трийодтиронина (СТ₃) в сыворотке крови человека в диапазоне 0-40 пмоль/л (0-26 пг/мл).

Введение

Среди гормонов щитовидной железы, продуцируемых в щитовидной железе, трийодтиронин (3,5,3'-трийодо-L-тиронин, Т₃) считается наиболее биологически активной молекулой, до 80% которой вырабатывается при деiodировании тетраiodтиронина (Т₄) в периферических тканях.

Т₃ обнаруживается в кровотоке в основном (99,7%) в связанном с белками виде, в незначительной степени (0,3%) в виде несвязанной фракции. Изменения общего количества гормонов щитовидной железы в крови могут быть обусловлены изменениями концентрации связывающих белков или выработкой гормонов щитовидной железой. Патология щитовидной железы вызывает стойкое изменение свободных несвязанных фракций, поэтому изменение концентрации свободных гормонов будет отражать степень функционирования щитовидной железы.

Гипертиреоз, как правило, связан с увеличением концентрации СТ₃, а в некоторых случаях повышенный уровень СТ₃ является единственным признаком тиреотоксикоза Т₃.

Определение концентрации свободного Т₃ позволяет также контролировать состояние пациентов, получающих терапию литирином.

Принцип метода

Метод основан на конкуренции между СТ₃ и конъюгатом (аналог Т₃, находящийся на поверхности пробирок) за связывание с ограниченными местами связывания с моноклональными антитрийодтирониновыми антителами, мечеными ¹²⁵I (метка).

После реакции фиксированного количества конъюгата и антител с различными количествами лиганда измеренная радиоактивность твердой фазы будет обратно пропорциональна концентрации лиганда.

В течение 1-часового инкубационного периода при постоянном помешивании иммунный комплекс иммобилизуется на реактивной поверхности пробирок. После инкубации содержимое пробирок извлекают и измеряют радиоактивность в гамма-счетчике.

Путем нанесения значений связывания, соответствующих стандартам, содержащим известное количество СТ₃, строится калибровочная кривая, с помощью которой можно определить концентрацию СТ₃ в исследуемых образцах пациента.

Содержимое набора

1. 1 флакон ¹²⁵I-МЕТКИ, готовой к использованию.
22 мл во флаконе. Содержит моноклональное антитело, меченое ¹²⁵I с активностью <260 кБк, в буфере с красным красителем, 0.1% NaN₃.

2. 6 флаконов СТАНДАРТОВ, готовых к использованию.

1 мл во флаконе. Содержат СТ₃ в концентрации примерно 0(S0), 3(S1), 6(S2), 12(S3), 20(S4) и 40(S5) пмоль/л в сыворотке крови человека с 0.1% NaN₃ и 0.5% Kathon CG.

Точная концентрация стандартов указана в прилагаемом сертификате качества.

3. 2 флакона КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ, готовой к использованию.

1 мл во флаконе, содержащем сыворотку человека с 0,1% NaN₃ и 0.5% Kathon CG.

Концентрация контрольных сывороток указана в прилагаемом сертификате качества.

4. 2 упаковки ПРОБИРОК С ПОКРЫТИЕМ, готовых к использованию. 2x50 пластиковая пробирка, 12x75 мм. Упакованы в пластиковую коробку.

1 Сертификат качества

1 Листок-вкладыш.

Необходимые материалы, инструменты и оборудование

Штатив для пробирок, высокоточные пипетки с одноразовыми наконечниками (100 и 200 мкл), шейкер, полимерная пленка, абсорбирующая ткань, дистиллированная вода, гамма-счетчик.

Рекомендованные инструменты и оборудование

Пипетки автоматические (например, Eppendorf)

Сбор и хранение образцов

Образцы сыворотки могут быть приготовлены согласно общепринятой процедуре, которая обычно используется в клинической лабораторной практике. Образцы могут храниться при температуре от 2 °C до 8 °C, если исследование проводится в течение 24 часов, иначе алиquotы должны быть приготовлены и сохранены в условиях глубокого замораживания (-20 °C). Перед использованием замороженные образцы должны быть разморожены и тщательно перемешаны. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов. Не использовать хилезные, гемолизированные и мутные образцы.

ВНИМАНИЕ!

Уравновесьте все реактивы и образцы сыворотки до комнатной температуры. Перед использованием тщательно перемешайте все реактивы и образцы. Избегайте чрезмерного пенообразования.

Использование контрольной сыворотки

Правила Надлежащей лабораторной практики требуют, чтобы контрольные сыворотки использовались в каждой серии анализов для проверки качества

полученных результатов. Все образцы должны обрабатываться одинаково, анализ результатов рекомендуется проводить с использованием адекватных статистических методов.

Процедура количественного определения

(Краткое описание)

1. Промаркируйте в двух экземплярах пробирки для каждого стандарта (S0-S5), контроля (СI, СII), образцов (U). При желании промаркируйте две пробирки для подсчета общей радиоактивности (Т).

2. Перед использованием тщательно перемешайте все реактивы и образцы. Избегайте чрезмерного пенообразования.

3. Внесите пипеткой **100 мкл** каждого стандарта, контроля и образцов в предварительно промаркированные пробирки.

4. Внесите пипеткой **200 мкл** метки в каждую пробирку.

5. Прочно зафиксируйте штатив на шейкере. Закройте все пробирки полимерной пленкой. Включите шейкер и настройте скорость, подходящую для того, чтобы жидкость в каждой пробирке постоянно вращалась и перемешивалась (мин. 600 об/мин).

6. Инкубируйте пробирки в течение 1 часа при комнатной температуре.

7. Внесите **1.0 мл** дистиллированной воды в каждую пробирку.

8. Отберите или перелите супернатант из всех пробирок путем переворачивания штатива. В перевернутом состоянии поместите штатив на фильтровальную бумагу на 2 минуты.

9. Рассчитайте радиоактивность каждой пробирки в гамма-счетчике в течение как минимум 60 секунд.

10. Рассчитайте концентрацию СТ₃ в образцах в соответствии с методикой расчета.

Протокол исследования, методика введения

(все объемы представлены в микролитрах)

	Всего	Стандарт	Контроль	Образец
Стандарт		100		
Контроль			100	
Образец				100
Метка	200	200	200	200
Перемешайте и инкубируйте при комнатной температуре в течение 1 часа				
Дистиллированная вода		1000	1000	1000
Слейте жидкость и промокните фильтровальную бумагой				
Рассчитайте радиоактивность (60 сек/пробирка)				
Подсчитайте результаты				

Расчет результатов

Расчет результатов представлен с использованием репрезентативных данных. Полученные данные должны быть схожими с данными, представленными в Таблице 2.

Рассчитать среднее значение в минуту (СРМ) для каждой пары исследуемых пробирок.

Рассчитайте процент связывания $V_0/T\%$ для нулевого стандарта (S0) по следующей формуле:

$$V_0/T \% = 100 * S_0(\text{cpm}) / T(\text{cpm})$$

Рассчитайте нормализованный процент связывания для каждого стандарта, контроля и образца по следующей формуле:

$$V/V_0 \% = 100 * S_{1-5} ; C ; S_x(\text{cpm}) / S_0(\text{cpm})$$

Для упрощения данные значения не корректируются в отношении неспецифического связывания, так как неспецифическое связывание составляет менее 1,5% от общего количества.

Используя полулогарифмическую миллиметровую бумагу, постройте график V/V_0 (%) для каждого стандарта относительно соответствующей концентрации CT_3 .

Определите концентрацию CT_3 в неизвестных образцах методом интерполяции по калибровочной кривой.

Для автоматической обработки полученных данных можно использовать логит-преобразование или сплайн подбор.

Таблица 2. Типичные данные количественного определения
(Не использовать для расчета значений неизвестных образцов)

Пробирки	Среднее значение cpm	V/T %	V/V ₀ %
T	117193		
S0	78274	66.8	100.0
S1	62906	53.7	80.4
S2	48612	41.4	62.1
S3	33977	29.0	43.4
S4	20982	17.9	26.8
S5	7733	6.6	9.9
CI	49453	42.2	63.2
СИ	38059	32.5	48.6

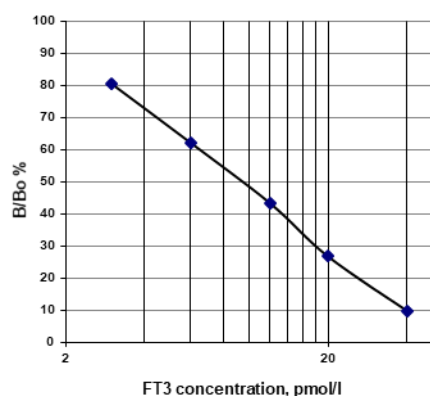


Рисунок 1.
Типичная стандартная кривая

Характеристика количественного определения

Конверсия в единицы СИ может быть проведена по следующей формуле:
1 пмоль/л = 0,0651 нг/дл

Чувствительность

Предел холостого раствора (ПХ), Предел обнаружения (ПО) и Предел количественного определения (ПКО) были определены в соответствии с руководством CLSI документ EP17.

Предел холостого раствора (ПХ): 0.43 пмоль/л

Предел обнаружения (ПО): 0.78 пмоль/л

Предел количественного определения (ПКО): 1.35 пмоль/л

Функциональная чувствительность равна Пределу количественного определения.

Специфичность

Специфичность набора CT_3 [I-125] RIA заявлена в соответствии с руководством CLSI C45-A (5.3.5 Перекрестная реактивность).

Специфичность антитела, используемого в наборе (овечьё моноклональное антитело к T_3 , клон $T_3.17C6$): перекрестная реактивность $T_4 < 1\%$.

Точность

Для определения точности в ходе определения внутрисубъектной вариабельности было проведено исследование 1 образца в 20 повторах.

Для определения точности в ходе определения межсубъектной вариабельности было проведено исследование 96 независимых образцов дважды.

Ниже представлены полученные значения.

Внутрисубъектная вариабельность	
Среднее значение (пмоль/л)	CV%
3.24	3.97
3.93	3.43
6.98	2.66
11.77	3.08
18.18	1.33

Межсубъектная вариабельность	
Среднее значение (пмоль/л)	CV%
3.22	7.72
7.58	5.41
11.16	4.29
19.37	2.79
24.48	6.23

Референтные значения

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные интервалы референтных значений.

Референтные значения, представленные ниже, получены при исследовании здоровых доноров.

Референтные значения составили 4.76 – 8.05 пмоль/л

Примечания к методике

1) **Источник ошибки!** Пробирки для проведения реакции упакованы в пластиковые коробки и не промаркированы индивидуально. Необходимо соблюдать осторожность,

чтобы не перепутать их с обычными пробирками. Для минимизации риска ошибки не берите из пластиковой коробки больше пробирок, чем необходимо. Неиспользованные пробирки, оставшиеся после работы, положите обратно в коробку. Пробирки, используемые для анализа, рекомендуется помечать маркером.

2) **Источник ошибки!** Для обеспечения эффективного вращения, пробирки следует плотно установить на штативе. Никогда не используйте штативы с открытым отверстием. Неравномерное или неполное встряхивание может стать причиной низкого качества проведения анализа.

Дополнительная информация

Не следует смешивать или заменять компоненты из различных партий или из наборов разных производителей

Меры предосторожности

Радиоактивность

Данный продукт содержит радиоактивный материал. Пользователь несет ответственность за соблюдение местных законов или правил, относящихся к порядку использования радиоактивных материалов.

Биологическая опасность

Продукты человеческой крови, использованные в наборе, были получены у здоровых доноров. Они были протестированы индивидуально с использованием утвержденных методов (иммуоферментный анализ). В результате проверки были получены отрицательные результаты на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека (анти-ВИЧ-1/2), антител к вирусу гепатита С (анти-НСV), антитрепонемных антител и поверхностных антигенов вируса гепатита В (HBsAg). Следует всегда соблюдать осторожность при работе с человеческими образцами, предназначенными для тестирования диагностическими наборами. Даже если образец был протестирован, ни один метод не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов. Следовательно, с образцами крови человека следует обращаться как с *потенциально инфекционно опасным материалом*.

Продукты животного происхождения, использованные в наборе, были получены у здоровых животных. Тем не менее с продуктами животного происхождения следует обращаться как с *потенциально инфекционно опасным материалом*.

Химическая опасность

В качестве антибактериального агента компоненты содержат азид натрия. При утилизации отходы следует смывать большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление взрывоопасных азидов металлов в системе водопровода. Общее содержание азидов в каждой упаковке составляет 30 мг.

Условия хранения и срок годности

Хранить при температуре 2-8°C

Срок годности: 67 дней с момента готовности.

	Срок годности		Контроль
	Номер партии		Стандарт
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Пробирка с покрытием
	Биологическая опасность		Метка
	Обратитесь к инструкции по использованию		Номер по каталогу
	Устройство для проведения диагностики in vitro		Хранить при температуре 2-8°C
	Производитель		Радиоактивный материал



Сайт: <http://www.izotop.hu>

Технический e-mail: immuno@izotop.hu

Коммерческий e-mail:

commerce@izotop.hu



ООО «Институт изотопов»

1535 Будапешт. Pf.: 851.

Тел.: (36-1) 392-2577,

Факс: (36-1) 395-9247

Обновлено: март 2022 г.