

RK-900STACE160401
**НАБОР ФЕРРИТИН [¹²⁵I]
IRMA**

(Номер по каталогу: RK-900СТ)

Система ФЕРРИТИН [¹²⁵I] IRMA позволяет проводить прямое количественное определение ФЕРРИТИНА в сыворотке крови человека. Количественное определение ФЕРРИТИНА может проводиться в диапазоне 0-1000 нг/мл. Каждый набор содержит материалы для 100 пробирок для количественного определения, что позволяет построить одну стандартную кривую и выполнить количественное определение 42 неизвестных образцов в двух экземплярах.

Введение

Ферритин является основным белком, с которым связывается и в составе которого хранится железо (Mw:450000). Он состоит из белковой оболочки и кристаллического ядра, которое представлено оксидом и фосфатом железа. Низкий уровень ферритина в сыворотке крови является важным диагностическим маркером железодефицитной анемии. В случае гемохроматоза высокие уровни ферритина могут указывать на избыточное содержание железа. Повышенные уровни ферритина в сыворотке также могут наблюдаться при острых и хронических заболеваниях печени.

Принцип метода

Технология, применяемая в системе иммунорадиометрического количественного определения (IRMA) подразумевает использование двух высокоаффинных моноклональных антител. Сигнальное антитело, меченное ¹²⁵I, связывается с эпитопом молекулы ферритина и затем распознается немеченым захватывающим антителом. Два указанных антитела одновременно реагируют с антигеном, который содержится в стандартах и образцах сыворотки, что приводит к образованию комплекса захватывающее антитело – антиген – сигнальное антитело, который также называется «сэндвич».

Во время периода инкубации продолжительностью 1 час, который сопровождается непрерывным перемешиванием, иммунный комплекс иммобилизуется на реакционной поверхности опытных пробирок. Затем реакционная смесь сливается, пробирки тщательно промываются с последующим определением радиоактивности в гамма-счетчике.

Концентрация антигена прямо пропорциональна уровню радиоактивности в опытных пробирках. Путем создания калибровочной кривой, в которой отражаются полученные значения в сравнении с серией стандартных

сывороток, содержащих известное количество ферритина, может быть определена искомая концентрация ферритина в образцах сыворотки пациента.

Содержимое набора

1. 1 флакон МЕТКИ, 21 мл, готовой к использованию. Содержит менее 740 кБк анти-ФЕРРИТИНА, меченного ¹²⁵I, и анти-ФЕРРИТИНА, меченного биотином, в буфер-содержащих белках, с красным красителем и 0.1% NaN₃.

2. 6 флаконов СТАНДАРТОВ (S1-S6), готовых к использованию (S1) 2.5 мл, (S2-S6) 0.5 мл лошадиной сыворотки, содержащей селеночувствительный ферритин и 0,1% NaN₃.

Конц.: 0, 5, 20, 70, 270, 1000 нг/мл.

3. 1 флакон КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ, готовой к использованию. 0,5 мл человеческой сыворотки, содержащей 0,1% NaN₃. Концентрация контрольной сыворотки указана в прилагаемом сертификате качества.

4. 2 упаковки ПРОБИРОК С ПОКРЫТИЕМ, готовых к использованию. 2x50 пластиковых пробирок, покрытых стрептавидином.

5. 1 флакон КОНЦЕНТРАТА ПРОМЫВОЧНОГО БУФЕРА, 20 мл, с 0.2% NaN₃. Перед использованием развести в 700 мл дистиллированной воды.

Сертификат качества

Листок-вкладыш

Необходимые материалы, инструменты и оборудование

Штатив для пробирок, высокоточные пипетки с одноразовыми наконечниками на 40 мкл, пипетки для серийных впрыскиваний на 200 и 2000 мкл, шейкер, полимерная пленка, абсорбирующая ткань, гамма-счетчик.

Рекомендуемые инструменты и оборудование

Диспенсер с резервуаром (вместо пипетки объемом 2 мл)

Сбор и хранение образцов

Образцы сыворотки могут быть приготовлены согласно общепринятым методикам, которые рутинно используются в клинической лабораторной практике. Если исследование проводится в течение 24 часов, образцы могут храниться при температуре от 2°C до 8°C. В иных случаях аликвоты должны приготавливаться и храниться в условиях глубокого замораживания (-20°C). Запрещается использовать липемичные, гемолизированные и мутные образцы. Перед использованием замороженные образцы должны быть разморожены и тщательно перемешаны. Необходимо избегать повторного замораживания и размораживания образцов.

Приготовление и хранение реактивов

После открывания хранить реактивы при температуре от 2°C до 8°C. При такой температуре каждый реактив остается стабильным до окончания срока годности. Фактический срок годности указан на этикетке упаковки и в сертификате качества.

Добавить концентрат промывочного буфера в 700 мл дистиллированной воды. Разбавленный раствор должен храниться при температуре от 2°C до 8°C до окончания срока годности набора.

ВНИМАНИЕ! Необходимо уравновесить все реактивы и образцы сыворотки до комнатной температуры. Перед использованием тщательно перемешать все реактивы и образцы. Избегать чрезмерного пенообразования.

Процедура количественного определения

(Краткое описание см. в Таблице 1.)

1. Промаркировать в двух экземплярах пробирки с покрытием для каждого стандарта (S1-S6), контрольной сыворотки (C) и образцов (P). Также можно промаркировать еще две пробирки для общего счета (T).
2. С помощью пипетки поместить по **40 мкл** СТАНДАРТА (S1-S6), КОНТРОЛЯ (C) и ОБРАЗЦОВ (P) в надлежащим образом промаркированные пробирки.
3. С помощью пипетки поместить по **200 мкл** МЕТКИ в каждую пробирку.
4. Запечатать все пробирки пластиковой пленкой. Если были приготовлены дополнительные пробирки для общего счета, поместить их отдельно от остальных.
5. Прочно зафиксировать штатив с пробирками на тарелке шейкера. Включить шейкер и настроить необходимую скорость с тем, чтобы в каждой пробирке жидкость постоянно вращалась или перемешивалась. Инкубировать пробирки в течение 1 часа при комнатной температуре. (Примечание: эффективное вращение является критическим фактором для правильного проведения исследования. Неравномерное или неполное встряхивание может привести к получению серьезных ошибок). Рекомендуемая минимальная скорость вращения 600 об/мин).
6. Добавить в каждую пробирку по 2.0 мл разбавленного промывочного буфера. Слить супернатант из всех пробирок путем переворачивания штатива. На 2 минуты поместить штатив на фильтровальную бумагу в перевернутом состоянии.
7. Повторить Этап 6.

8. Подсчитать радиоактивность каждой пробирки в гамма-счетчике в течение как минимум 60 секунд.

Таблица 1. Протокол исследования, методика введения
(все объемы представлены в микролитрах)

	T	S1-S6	C	P
Стандарт		40		
Контроль			40	
Образцы				40
Метка	200	200	200	200
Перемешать в течение 1 часа при комнатной температуре				
Промывочный буфер		2000	2000	2000
Слить жидкость и поставить штатив на фильтровальную бумагу				
Промывочный буфер		2000	2000	2000
Слить жидкость и поставить штатив на фильтровальную бумагу				
Рассчитать радиоактивность (60 сек/пробирка)				
Подсчитать результаты				

Расчет результатов

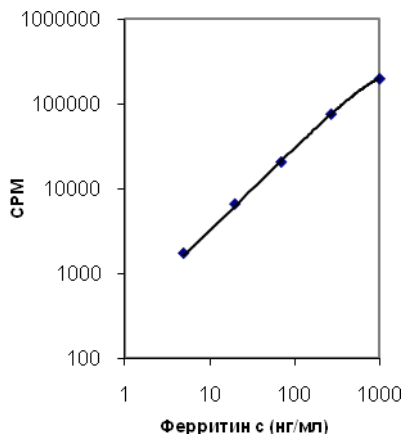
Рассчитать среднее значение в минуту СРМ для каждой пары пробирок. Построить стандартную кривую путем нанесения на график средних значений СРМ для каждого стандартного уровня (ордината) против соответствующей концентрации, за исключением 0 стандарта (абсцисса) с использованием логарифмической миллиметровой бумаги. Получить концентрации для образцов путем интерполяции их счетов на стандартную кривую. Для проведения компьютерных расчетов и/или оценки качества используются нормализованные специфические значения связывания, а не величины срм. Специфические значения связывания могут быть рассчитаны для каждого стандарта и образца с использованием следующей формулы:

$$B/T(\%) = \frac{S_{2-6} / C / P (\text{срм}) - S_1(\text{срм})}{T(\text{срм})} \times 100$$

Типичные данные количественного определения

Пробирки	Среднее значение срм	B/T %	нг/мл
T	261609		
S1	116	0.04	
S2	924	0.35	
S3	3241	1.24	
S4	11032	4.22	
S5	45032	17.21	
S6	129971	49.68	
C	12755		78.4

Типичная стандартная кривая



Характеристика количественного определения

Рабочие параметры определялись в идеальных экспериментальных условиях с использованием свежих меток.

Калибровка

Производилась калибровка стандартов к Международному стандарту ВОЗ, Код 94/572

Типичные параметры количественного определения

NSB/T < 0.06%
V_{max}/T > 40%

Аналитическая чувствительность

В данном количественном определении аналитическая чувствительность составляла 0.6 нг/мл. Она рассчитывалась по значению 2 x СО (среднеквадратическое отклонение) при нулевом стандарте и по наклону кривой при нулевой дозе.

Эффект крючка

При концентрациях ФЕРРИТИНА до 74000 нг/мл высокодозный «эффект крючка» отсутствует.

Специфичность

Перекрестная реактивность с человеческим печеночным ферритином составляет 100%.

Точность и воспроизводимость

Для определения внутрисубъектной и межсубъектной вариабельности было проведено исследование 5 образцов в 20 повторах в 1 серии и 7 образцов в двойном экземпляре в 12 сериях. Ниже представлены полученные значения:

Внутрисубъектная вариабельность	Межсубъектная вариабельность
---------------------------------	------------------------------

Среднее значение нмоль/л	CV %	Среднее значение нмоль/л	CV %
20.3	1.95	2.19	7.65
38.5	2.90	40.2	2.76
90.2	1.45	67.3	5.12
365	1.21	92.4	4.43
448	2.49	195.5	3.83
		366.4	3.76
		506.8	3.67

Восстановление

Под восстановлением понималось зафиксированное увеличение, выраженное в процентах от ожидаемого роста пиков в образцах сыворотки крови с известным количеством ферритина. Для 11 образцов сыворотки крови с ферритином (91 нг/мл) было получено следующее значение: 92.9 ± 8.7%.

Тест разведения

Исследование 6 образцов проводилось в серии разведений (3, 9, 27-кратное) с нулевым стандартом. Приведенная ниже формула, полученная для измеренной (Y) концентрации в сравнении с ожидаемой (X), указывает на хорошую линейность: $y = 0,934x + 0,83$, R = 0.9999, n = 18

Ожидаемые значения

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные диапазоны эталонных значений. Представленные здесь ожидаемые значения основаны на тестировании предположительно здоровых доноров крови. Образцы были протестированы в двойном экземпляре. После логарифмической трансформации наблюдалось нормальное распределение значений сывороточного ферритина. Диапазон нормальных значений рассчитывался на основании средних значений ± 2 СО (логарифмическая шкала). В образцах крови, полученных от **взрослых доноров женского пола** (n=98; возраст: средний 32.9 ± 9.5, диапазон 19 - 49), сывороточные концентрации ферритина составили 33.8 ± 27.4 нг/мл (среднее значение ± СО). Значения образцов находились в пределах диапазона 8.4-170 нг/мл.

Диапазон эталонных значений: 6 - 111 нг/мл

В образцах крови, полученных от **взрослых доноров женского пола** (n=55; возраст: средний 55.6 ± 3.8, диапазон 50 - 66), сывороточные концентрации ферритина составили 47.7 ± 46.7 нг/мл (среднее значение ± СО). Значения образцов находились в пределах диапазона 6.7-224 нг/мл.

Диапазон эталонных значений: 7 - 172 нг/мл

В образцах крови, полученных от **взрослых доноров мужского пола** (n=99; возраст: средний 36.7 ± 13, диапазон 19 -

64), сывороточные концентрации ферритина составили 102.2 ± 100.7 нг/мл (среднее значение \pm СО). Значения образцов находились в пределах диапазона 10-299 нг/мл.

Диапазон эталонных значений: 17 - 321 нг/мл

Преобразование единиц

1 нмоль/л = 450 нг/мл

1 нг/мл = 2.22 пмоль/л

Примечания к методике

1) **Источник ошибки!** Опытные реакционные пробирки, упакованные в пластиковые коробки, индивидуально не промаркированы. Необходимо следить за тем, чтобы они не перемешивались с обычными опытными пробирками. Для минимизации риска не следует брать из пластиковой коробки больше пробирок, чем необходимо для проведения исследования, а после выполнения работы класть их обратно в коробку. Пробирки для количественного определения рекомендуется пометать маркером.

2) **Источник ошибки!** Для обеспечения эффективного вращения пробирки должны быть плотно закреплены в штативе. Никогда не используйте штативы с открытым отверстием. Неравномерное или неполное встряхивание может стать причиной низкой эффективности количественного определения.

3) **Добавление промывочного буфера.** Для добавления промывочного буфера рекомендуется использование обычного лабораторного диспенсера со стеклянной емкостью объемом 1 л и гибкого выпускника для пробирки. При отсутствии данного оборудования может использоваться шприц большого объема, соединенный с пипеткой для серийного введения.

Дополнительная информация

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

Меры предосторожности

Радиоактивность

Данный набор содержит радиоактивный материал. Пользователь несет ответственность за соблюдение местных законов и правил по использованию радиоактивных материалов.

Потенциально инфекционно опасные материалы

Продукты человеческой крови, которые используются в наборе, были получены от здоровых доноров. Они были подвергнуты индивидуальным исследованиям с использованием утвержденных методик

(ИФА, иммуноферментный анализ), по результатам которых были получены отрицательные результаты на наличие обоих антител к вирусу иммунодефицита человека (анти-ВИЧ-1/2), поверхностных антигенов вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С и трепонемных антител.

При работе с образцами, полученными от человека, которые подлежат исследованию с использованием диагностических наборов, необходимо всегда соблюдать осторожность. Даже если пациент прошел необходимые обследования, ни один из методов не может дать полной гарантии отсутствия возбудителей вируса гепатита В, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1) или других инфекционных агентов. Следовательно, с образцами крови человека всегда необходимо обращаться как с *потенциально инфекционно опасным материалом*.

Все вещества и производные животного происхождения получены от здоровых животных.

Химическая опасность






В качестве антибактериального агента компоненты набора содержат азид натрия. При утилизации отходов их необходимо смывать большим количеством воды для предотвращения накопления взрывоопасных азидов металлов в водопроводе, который может содержать части из меди и свинца. Общее содержание азидов в каждой упаковке составляет 66.5 мг.

Условия хранения и срок годности

Хранить при температуре 2-8°C

Срок годности: 60 дней с момента готовности.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Использовать до		Номер партии
	Температурный предел Хранить при температуре 2-8°C		Контроль
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Стандарт
	Биологическая опасность		Пробирка с покрытием
	Обратитесь к инструкции по использованию		Метка
	Устройство для проведения диагностики <i>in vitro</i>		Промывочный буфер
	Производитель		Радиоактивный материал
	Номер по каталогу		



Сайт: <http://www.izotop.hu>

Технический e-mail: immuno@izotop.hu

Коммерческий

commerce@izotop.hu

e-mail:



INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Тел.: (36-1)392-2577,

Факс: (36-1)395-9247

Обновлено апрель 2016