

НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОГЛОЩЕНИЯ [^{125}I]- T_3 RIA

(Номер по каталогу: RK-950CT)

Система ^{125}I - T_3 RIA обеспечивает количественное определение поглощения T_3 в человеческой сыворотке *in vitro*. Оценка поглощения T_3 может проводиться с использованием образцов плазмы объемом 20 мкл.

Принцип метода

Радиоиммунное количественное определение поглощения T_3 основано на определении ненасыщенной связывающей способности ТСГ (тироксинсвязывающего глобулина) в сыворотке крови человека. Стандартная сыворотка, контрольные образцы и сыворотка пациента инкубируются в пробирках, покрытых стрептавидином, в присутствии биотинилированных анти- T_3 моноклональных антител и метки T_3 , меченной ^{125}I . Количество радиоактивного T_3 , связанного с антителом косвенно пропорционально количеству ненасыщенных участков связывания на ТСГ. После 1 часа инкубационного периода биотинилированные антитела фиксируются на стенках пробирки, а реакционная смесь аспирируется либо сливается с целью удаления свободной метки T_3 , меченой йодом. Затем в гамма-счетчике определяется величина связанной радиоактивности в реакционных участках на стенках пробирки. Расчет величины поглощения T_3 в образцах сыворотки крови пациента должен проводиться по СРМ образцов пациента и по СРМ эталонных образцов с использованием определенной заранее величины поглощения T_3 в эталонной сыворотке.

Содержимое набора

1. 1 флакон МЕТКИ, готовой к использованию. 11 мл на флакон, содержит < 260 кБк ^{125}I - T_3 в буфере с красным красителем и 0,1% раствором NaN_3 .
2. 1 флакон АНТИСЫВОРОТКИ. Готовой к использованию. 11 мл

на флакон, содержит биотинилированные анти- T_3 антитела в буфере с синим красителем и 0,1% раствором NaN_3 .

3. 1 флакон СТАНДАРТНОЙ СЫВОРОТКИ в человеческой сыворотке 0,1% раствором NaN_3 . 0,5 мл на флакон. Заранее определенная величина поглощения T_3 указана в сертификате качества.

4. 2 флакона лиофилизированной КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ. Низкий (СI) и высокий (СII). Для восстановления с помощью дистиллированной воды, 0,5 мл на флакон, содержит 0,1% раствор NaN_3 . Концентрация контрольной сыворотки указана в прилагаемом сертификате качества.

См. *Приготовление реагентов.*

5. 2 упаковки ПРОБИРОК С ПОКРЫТИЕМ, Готовые к использованию. 2 × 50 пробирок, 12 × 75 мм, упакованы в пластиковые коробки.

Сертификат качества
Листок-вкладыш

Необходимые материалы, инструменты и оборудование

Штатив для пробирок, высокоточные пипетки с одноразовыми наконечниками (20, 100 и 2000 мкл), дистиллированная вода, шейкер, полимерная пленка, абсорбирующая ткань, гамма-счетчик.

Рекомендуемые инструменты и оборудование

пипетки для серийных впрыскиваний (напр., Eppendorf и др.), диспенсер с резервуаром 1 л (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). Перед использованием замороженные образцы должны быть разморожены и тщательно

перемешены. Необходимо избегать повторного замораживания и размораживания образцов. Запрещается использовать липемичные, гемолизированные и мутные образцы.

Приготовление и хранение реактивов

Добавить 500 мкл дистиллированной воды к лиофилизированной контрольной сыворотке. Аккуратно перемешать раствор путем встряхивания и круговых движений (необходимо избегать образования пены).

Убедиться в том, что содержимое полностью растворилось, после чего дать раствору уравновеситься при комнатной температуре в течение как минимум 20 минут. Хранить при температуре -20°C до окончания срока годности.

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.

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. Перед использованием уравновесить реактивы и образцы до комнатной температуры.
2. Промаркировать в двух экземплярах пробирки с покрытием для стандартной сыворотки, контрольной сыворотки и образцов.
3. Гомогенизировать все реактивы и образцы путем аккуратного перемешивания, избегая образования пены.
4. С помощью пипетки поместить по 20 мкл стандартной сыворотки, контрольной сыворотки и образцов в предварительно

промаркированные пробирки. Для удержания пробирок использовать штатив. Не дотрагиваться и не царапать внутреннюю поверхность пробирок кончиком пипетки.

5. С помощью пипетки поместить в каждую пробирку по 100 мкл метки. (Отложить 2 пробирки для общего подсчета).
6. С помощью пипетки поместить в каждую пробирку по 100 мкл антисыворотки.
7. Прочно зафиксировать штатив с опытными пробирками на тарелке шейкера. Включить шейкер и настроить необходимую скорость с тем, чтобы в каждой пробирке жидкость постоянно вращалась или перемешивалась.
8. Инкубировать пробирки в течение 1 часа при комнатной температуре, непрерывно встряхивая.
9. Добавить в каждую пробирку по 2.0 мл дистиллированной воды. Слить супернатант из всех пробирок путем переворачивания штатива. На 2 минуты поместить штатив на фильтровальную бумагу в перевернутом состоянии.
10. Подсчитать радиоактивность каждой пробирки в гамма-счетчике в течение как минимум 60 секунд.
11. Рассчитать величину поглощения T_3 .

Таблица 1. Протокол исследования, методика введения

(все объемы представлены в микролитрах)

Пробирки	Все-го	Стан-д. сыво-ротка	Конт-роль	Обра-зец
Станд. сыворотка		20		
Контроль			20	
Образец				20
Метка	(100)	100	100	100
Антисыворотка		100	100	100
Перемешать в течение 1 часа при комнатной температуре				
Дистилл. вода		2000	2000	2000
Слить жидкость и поставить штатив на фильтровальную бумагу				
Рассчитать радиоактивность (60 сек/пробирка)				
Подсчитать результаты				

Расчет результатов

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

Рассчитать среднее количество счетов в минуту (срм) для каждой пары исследуемых пробирок.

Рассчитать процент (%) поглощения для каждого контроля и образца с использованием следующей формулы:

$$\text{Поглощение \%} = (\text{Контроль, Образец (срм)}) / \text{Стандартная сыворотка (срм)} \times 100 \text{ Стандартная сыворотка \%}$$

Таблица 2. Типичные данные количественного определения

Пробирки	Счет срм	Среднее значение срм	Поглощение T_3 %
Всего	81056 79641	80349	-
Стандартная сыворотка	47412 47303	47358	Def. 37.0
CI	41900 42052	41976	32.8
СИ	62423 62262	62342	48.7

Характеристика количественного определения

Точность

Точность в ходе количественного определения определялась в 20 повторах в ходе одного определения с использованием объединенных образцов человеческой сыворотки. Значения CV (коэффициент вариации) представлены ниже.

Таблица 3.

образец №	в ходе количественного определения	
	среднее значение поглощения T_3 %	CV %
1	37.0	1.5
2	27.9	2.0
3	40.5	2.0
4	32.8	1.2
5	48.7	1.2

Ожидаемые значения

Ожидаемые значения были получены путем тестирования 429 здоровых доноров крови. Ожидается, что эутиреоидному состоянию соответствует диапазон

29 – 41%, среднее значение составляет 35.4%.

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория для своей популяции пациентов определяла собственный диапазон значений, соответствующих эутиреоидному состоянию, так как данный показатель может варьировать в различных лабораториях и регионах.

Дополнительная информация

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

Примечание к этапу встряхивания: при встряхивании пробирки должны быть плотно закреплены в штативе с тем, чтобы встряхивание всех пробирок проводилось с одинаковой скоростью и силой.

Примечания к методике

- 1) **Источник ошибки!** Пробирки, упакованные в пластиковые коробки, индивидуально не промаркированы. Необходимо следить за тем, чтобы они не перемешивались с обычными 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 пометить 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 дистиллированной воды.** Для добавления дистиллированной воды 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.

Меры предосторожности

Радиоактивность

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

Биологическая опасность

















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 антител к вирусу иммунодефицита человека (анти-ВИЧ-1) поверхностных антигенов вируса гепатита В (HBsAg) 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*.

Химическая опасность

В качестве антибактериального агента компоненты набора содержат азид натрия. При утилизации отходов их необходимо смывать большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление

взрывоопасных азидов металлов в водопроводе, который может содержать части из меди и свинца. Общее содержание азидов в каждой упаковке составляет 23,5 мг.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Использован о		Номер парти и
	Температурн ые ограничения Хранить при температуре 2-8°C		Контр оль
	Внимание, обратитесь к сопроводите льным документам		Станд артна я сывор отка
	Биологическ ая опасность		Проби рка с покры тием
	Обратитесь к инструкции по использован ию		Метка
	Устройство для проведения диагностики <i>in vitro</i>		Антис ыворо тка
	Производител ь		Номер по катал огу
	Радиоактивн ый материал		
			

Сайт: <http://www.izotop.hu>

Технический **e-mail:**
immuno@izotop.hu

Коммерческий **e-mail:**
commerce@izotop.hu

IZOTOP

INSTITUTE OF ISOTOPES CO.
LTD.

H-1121 Budapest, Konkoly-Thege
Miklós út 29-33

Тел.: (36-1)392-2577,

Факс: (36-1)395-9247

06820