

НАБОР СТ4 [I-125] RIA

(Номер по каталогу: RK-349CT)

Набор СТ₄ [I-125] RIA позволяет проводить количественное определение *in vitro* свободного тироксина (СТ₄) в сыворотке крови человека. В образце сыворотки 50 мкл СТ₄ может быть определен в диапазоне 0-80 пмоль/л (0-6,22 нг/дл).

Введение

Гормоны щитовидной железы (тироксин, Т₄ и трийодтиронин Т₃) обнаруживается в кровотоке в основном в связанном с белком виде, в незначительной степени (0,03% Т₄ и 0,3% Т₃) 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 клиническая значимость общего количества Т₄ и Т₃ зависит от знания процента связывания их с белками. Уровень свободного Т₄ в сыворотке (СТ₄) очень хорошо коррелирует с уровнем секреции и метаболизма Т₄ и был рекомендован в качестве наиболее надежного и значимого диагностического показателя заболеваний щитовидной железы, в основном в конфликтных или пограничных случаях. Однако определяемый уровень СТ₄ очень чувствителен к аналитическому методу из-за сложного множественного равновесия между различными белковыми компартаментами Т₄.

Принцип метода

Метод основан на конкуренции между СТ₄ и конъюгатом (аналог Т₄, находящийся на поверхности пробирок) за связывание с ограниченными местами связывания с моноклональными антитироксидными 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 СТ₄, строится калибровочная кривая, с помощью которой можно определить концентрацию СТ₄ 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 и 0.1% NaN₃ в качестве консерванта.

2. 6 флаконов СТАНДАРТОВ, готовых к использованию.

1 мл во флаконе. Содержат СТ₄ в концентрации примерно 0(S₁), 5(S₂), 10(S₃), 20(S₄), 40(S₅) и 80 (S₆) 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 (50 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 аликвоты 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 в течение как минимум 20 минут. Перед использованием тщательно перемешайте все реактивы и образцы. Избегайте чрезмерного пенообразования. Убедитесь, что растворение произошло полностью.

Использование контрольной сыворотки

Надлежащая лабораторная практика требует использования контрольных сывороток в каждой серии анализов для проверки качества полученных

результатов. Со всеми образцами следует обращаться одинаково, анализ результатов рекомендуется проводить с использованием соответствующих статистических методов.

Процедура количественного определения

(Краткое описание)

1. Промаркируйте в двух экземплярах пробирки для каждого стандарта (S1-S6), контроля (C1, C2), образцов (U). При желании промаркируйте две пробирки для подсчета общей радиоактивности (T).
2. Перед использованием тщательно перемешайте все реактивы и образцы. Избегайте чрезмерного пенообразования.
3. Внесите пипеткой **50 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 (рекомендуемая скорость 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 перелейте 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 СТ₄ в образцах в соответствии с методикой расчета.

Протокол исследования, методика введения

(все объемы представлены в микролитрах)

	Всего	Стандарт	Контроль	Образец
Стандарт		50		
Контроль			50	
Образец				50
Метка	(200)	200	200	200
Перемешайте при комнатной температуре в течение 1 часа				
Дистиллированная вода		1000	1000	1000
Слейте жидкость и промокните фильтровальную бумагой в течение 2 минут				
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 (S1) по следующей формуле:

$$V_0/T \% = 100 * S_1 (cpm) / T (cpm)$$

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

$$V/B_0 \% = 100 * S_{2-6} ; C ; S_x (cpm) / S_1 (cpm)$$

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/B_0 (%) для каждого стандарта относительно соответствующей концентрации CT_4 . На рисунке 1 представлена типичная стандартная кривая.

Определите концентрацию CT_4 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/B ₀ %
T	103487		
S1	59621	57.6	100.0
S2	51965	50.2	87.1
S3	44510	43.0	74.7
S4	31450	30.4	52.7
S5	12913	12.5	21.7
S6	2695	2.6	4.5
СI	37757	36.5	63.3
СII	18416	17.8	30.9

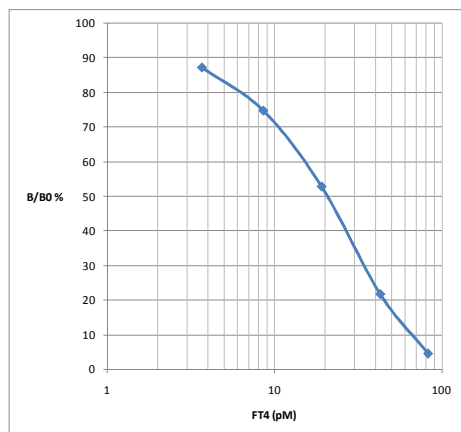


Рисунок 1.

Типичная стандартная кривая

Характеристика количественного определения

Конверсия в единицы СИ может быть проведена по следующей формуле:

$$1 \text{ пмоль/л} = 0,0777 \text{ нг/дл}$$

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): 0.88 пмоль/л

Предел обнаружения (ПО): 1.28 пмоль/л

Предел количественного определения (ПКО): 1.40 пмоль/л

Функциональная чувствительность равна Пределу количественного определения.

Специфичность

Специфичность набора CT_4 [I-125] RIA заявлена в соответствии с руководством CLSI C45-A (5.3.5 Перекрестная реактивность)

Специфичность антитела, используемого в наборе (Анти-тироксин клон 6901):

T3 (3,3', 5-трийодтиронин): 1,5%

rT3 (3,3', 5'-трийодтиронин, обратный T3): 1,5%

3,5-дийодтиронин: <0,1%

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 109 независимых образцов дважды.

Ниже представлены полученные значения.

Внутрисубъектная вариабельность		Межсубъектная вариабельность	
Среднее значение пмоль/л	CV%	Среднее значение пмоль/л	CV%
4.2	7.19	2.1	12.1
12.6	2.03	9.5	5.3
18.7	1.45	14.7	2.7
31.6	1.43	30.9	3.5
50.7	0.66	35.4	2.2
4.2	7.19	57.6	6.5

Референтные значения

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные интервалы референтных значений.

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

Референтные значения составили 10.3–22.8 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. Непользованные пробирки, оставшиеся после работы, положите обратно в коробку. Пробирки, используемые для анализа, рекомендуется пометить 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.

	Использовано	CONTROL	Контроль
	Номер партии	CAL	Стандарт
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам	CT	Пробирка с покрытием
	Биологическая опасность	TRAC	Метка
	Обратитесь к инструкции по использованию	REF	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: апрель 2021 г.