

Набор Анти-чТПО [I-125] RIA (Номер по каталогу: RK-36CT)

Система Анти-ТПО [I-125] RIA обеспечивает прямое количественное определение аутоиммунных антител к тиреопероксидазе в сыворотке крови человека. Количественное определение анти-тиреопероксидазы (анти-ТПО) может проводиться в диапазоне 0-1900 МЕ/мл при использовании образцов сыворотки по 10 мкл. 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

Человеческая тиреопероксидаза (ТПО), находящаяся в фолликулярных клетках щитовидной железы, представляет собой высокомолекулярный гликопротеин (105 кДа) и содержит гем простетическую группу. Этот фермент играет ключевую роль в многошаговом процессе биосинтеза гормонов щитовидной железы, таких как T4 и T3.

В большинстве случаев причиной развития заболеваний щитовидной железы является продукция аутоиммунных антител к антигенам тканей щитовидной железы. Наиболее важными аутоиммунными антителами являются антитела к тиреоглобулину, тиреопероксидазе и рецептору тиреотропного гормона.

Анти-ТПО обнаруживается при всех аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы, и наиболее высокий уровень наблюдается при тиреоидите Хасимото. Повышенный уровень анти-ТПО также характерен для идиопатической микседемы и хронического атрофического тиреоидита. Анти-ТПО аутоиммунные антитела являются индикаторами развития тиреоидита во время беременности или у пациентов с отягощенным семейным анамнезом различных аутоиммунных расстройств (сахарный диабет 1 типа, болезнь Аддисона, злокачественная анемия).

Ауто-антитела к ТПО часто выявляются у пациентов, страдающих аденомой или карциномой щитовидной железы.

Принцип метода

Метод основан на конкуренции между поликлональными человеческими антителами, находящимися на поверхности пробирок, и антителами, присутствующими в образце за связывание с ТПО, меченой ¹²⁵I.

Образцы и калибраторы инкубируются вместе в присутствии ¹²⁵I-ТПО в пробирках, покрытых анти-ТПО. После

инкубации содержимое пробирок извлекают и измеряют радиоактивность в гамма-счетчике.

Концентрация анти-ТПО обратно пропорциональна радиоактивности, измеренной в пробирках. Путем нанесения значений связывания, соответствующих стандартам, содержащим известное количество анти-ТПО, строится калибровочная кривая, с помощью которой можно определить концентрацию в исследуемых образцах.

Содержание набора

1. 2 флакона МЕТКИ 16 мл, готовой к использованию. Содержит менее чем 130 кБк/флакон чТПО, меченой ¹²⁵I, в буфере, содержащем белки, 0,1% NaN₃, окрашенный в красный цвет.

2. 6 флаконов СТАНДАРТОВ (S0-S5), готовых к использованию. 6 x 0,75 мл (S0-S5), содержащие человеческие анти-ТПО антитела в плазме человека с 0,1% NaN₃. Конц.: 0; 15; 50; 170; 600; 1900 МЕ/мл.

3. 2 флакона КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ, готовой к использованию. 0,75 мл плазмы человека, содержащей 0,1% NaN₃.

Концентрация контрольных сывороток указана в прилагаемом сертификате качества.

4. 2 упаковки ПРОБИРОК С ПОКРЫТИЕМ, готовых к использованию. 2x50 пластиковая пробирка, покрытая поликлональным человеческим антителом.

Сертификат качества
Листок-вкладыш.

Необходимые материалы, инструменты и оборудование

Штатив для пробирок, автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками (10, 300 мкл), шейкер, полиэтиленовая пленка, адсорбирующая ткань, гамма-счетчик, дистиллированная вода.

Рекомендуемые инструменты и оборудование:

Градуированные пипетки, диспенсер с резервуаром (вместо 1-мл пипетки).

Сбор и хранение образцов

Образцы сыворотки могут быть подготовлены в соответствии с общей процедурой, которая обычно используется в клинической лабораторной практике. Образцы можно хранить при температуре 2-8°C в случае, если анализ будет проводиться в течение 24 часов, иначе аликвоты должны быть сохранены в условиях глубокого замораживания (-20°C). Перед анализом образцы необходимо разморозить и тщательно перемешать. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания. Не используйте липемические, гемолизированные или мутные образцы. Образцы с концентрацией выше 1900 МЕ/мл следует развести нулевым стандартом.

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.

Приготовление реактивов, хранение

Хранить реактивы после вскрытия следует при температуре от 2°C до 8°C. При такой температуре каждый реактив стабилен до истечения срока годности. Фактический срок указан на этикетке и в сертификате качества.

ВНИМАНИЕ!

Уравновесьте все реактивы и образцы сыворотки при комнатной температуре. Перед использованием тщательно перемешайте все реактивы и образцы. Избегайте чрезмерного пенообразования.

Процедура количественного определения

(Краткое описание)

1. Промаркируйте в двух экземплярах пробирки с покрытием для каждого стандарта (S0-S5), контрольных сывороток (СI, СII) и образцов (Р). При желании промаркируйте две пробирки для подсчета общей радиоактивности (Т).
2. С помощью пипетки поместите **10 мкл СТАНДАРТА, КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ и ОБРАЗЦОВ** в предварительно промаркированные пробирки.
3. С помощью пипетки поместите в каждую из пробирок **300 мкл МЕТКИ**.
4. Прочно зафиксируйте штатив на шейкере. Закройте все пробирки полиэтиленовой пленкой. Включите шейкер и настройте скорость, подходящую для того, чтобы жидкость в каждой пробирке постоянно вращалась и перемешивалась (рекомендуемая скорость мин. 600 об/мин).
5. Инкубируйте пробирки в течение 2 часов при комнатной температуре.
6. Добавьте в каждую пробирку по **1,0 мл** дистиллированной воды.
7. Отберите или перелейте супернатант из всех пробирок путем переворачивания штатива. В перевернутом состоянии поместите штатив на фильтровальную бумагу на 2 минуты.
8. Рассчитайте радиоактивность каждой пробирки в гамма-счетчике в течение как минимум 60 секунд.
9. Рассчитайте концентрацию анти-чТПО в образцах в соответствии с методикой расчета или с помощью специального оборудования.

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

	T	S0-S5	CI, CII	P
Стандарт		10		
Контроль			10	
Образцы				10
Метка	300	300	300	300
Перемешайте в течение 2 часов при комнатной температуре				
Дистиллированная вода	1000	1000	1000	
Слейте жидкость и промокните фильтровальной 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 (CPM) для каждой пары исследуемых пробирок.

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

$$V_0/T \% = 100 * S0 / T$$

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

$$V/V_0 (\%) = 100 * (S1-S5; CI-II; P_x) / S0$$

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

На рисунке 1 представлено изображение типичной стандартной кривой.

Определите концентрацию анти-ТПО в неизвестных образцах методом интерполяции по калибровочной кривой. Не рекомендуется экстраполировать значения, выходящие за пределы диапазона стандартной кривой.

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

Таблица 2. Типичные данные количественного определения

Пробирки	Среднее срп	V/V_0 %	МЕ/мл
T	82 863		
S0	42 890	100	
S1	34 946	81.5	
S2	24 827	57.9	
S3	11 200	26.1	
S4	4 404	10.3	
S5	1 823	4.3	
CI	21 880		63.7
CII	12 125		171.4

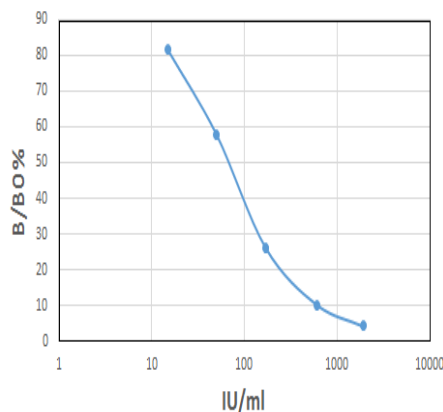


Рисунок 1. Типичная стандартная кривая (Не использовать для расчета значений неизвестных образцов)

Характеристика количественного определения

Калибровка

Стандарты откалиброваны согласно международному стандарту NIBSC 66/387.

Чувствительность

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

ПХ = 4,60 МЕ/мл, определяется как наивысший результат измерения, который может наблюдаться (с заявленной вероятностью [5%]) для холостого образца.

ПО = 7,26 МЕ/мл, определяется с долей ложноположительных результатов (α) менее 5% и ложноотрицательных результатов (β) менее 5% на основе 207 определений с 5 образцами с низким уровнем.

ПКО = 10,0 МЕ/мл, как графически определяется из кривой профиля точности.

Точность и воспроизводимость

Для определения точности в ходе определения **внутрисубъектной** **вариабельности** было проведено исследование 6 образцов сыворотки человека в 20 повторах. Ниже представлены полученные значения.

Образец	Среднее значение МЕ/мл	Внутрисубъектная вариабельность CV%
1	743	5.6
2	415	8.2
3	76	9.3
4	34	5.9
5	16	11.7
6	12	10.1

Для определения точности в ходе определения **межсубъектной** **вариабельности** было проведено исследование 6 образцов сыворотки человека трижды в 20 независимых анализах, проведенных 5 операторами, с использованием различных партий

наборов. Ниже представлены полученные значения.

Образец	Среднее значение МЕ/мл	Внутрисубъектная вариабельность CV%
1	900	9.1
2	445	6.5
3	79	6.2
4	36	8.3
5	16	10.9
6	12	15.2

Помехи

Никаких помех не наблюдалось до следующих концентраций:

Билирубин = 143 мкмоль/л,
Триглицериды = 27 ммоль/л,
Гемоглобин = 12,2 г/л,
Биотин = 1600 нг/мл

Специфичность (перекрестная реакция)

Перекрестной реактивности с анти-чТГ (2684 МЕ/мл) не наблюдалось.

Референтные значения

Концентрация анти-ТПО была измерена в сыворотке крови 279 доноров. Выпадающие значения принимались как значения выше 95% от результатов, полученных у здоровых доноров.

Патологическим значением в исследуемой популяции может считаться значение **более 25 МЕ/мл**.

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные интервалы референтных значений.

Полученные результаты следует интерпретировать только в контексте общей клинической картины. Ни один из диагностических наборов не может быть использован в качестве единственного доказательства наличия какого-либо заболевания либо нарушения.

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 наборов разных производителей.



In vitro
диагностическое
устройство

REF

Номер по
каталогу



Производитель



Радиоактив-
ный материал

Меры предосторожности

Радиоактивность

Данный продукт содержит радиоактивный материал. Пользователь несет ответственность за соблюдение местных законов или правил, касающихся порядка использования радиоактивных материалов.



Вебсайт: <http://www.izotop.hu>

Технический e-mail: immuno@izotop.hu

Коммерческий e-mail:

commerce@izotop.hu

Биологическая опасность

Продукты человеческой крови, использованные в наборе, были получены у здоровых доноров. Они были протестированы индивидуально с использованием утвержденных методов (иммуноферментный 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-HCV), 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*.



ООО «Институт изотопов»

1535 Будапешт. Pf.: 851.

Тел.: (36-1) 392-2577,

Факс: (36-1) 395-9247

Обновлено: август 2020 г.

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 38 мг.

Условия хранения и срок годности

Хранить при температуре 2-8°C

Срок годности: 67 дней с момента готовности.



Использовано

LOT

Номер
партии



Температурный
предел

CONTROL

Контроль



Внимание,
обратитесь к
сопроводительным
документам

CAL

Стандарт



Биологическая
опасность

CT

Пробирка с
покрытием



Обратитесь к
инструкции по
использованию

TRAC

Метка