

НАБОР Анти-чТГ [I-125] RIA

(Номер по каталогу: RK-8CT)

Система Анти-чТГ [¹²⁵I] RIA позволяет проводить прямое количественное определение аутоантител к тиреоглобулину в сыворотке крови человека в диапазоне 0-3000 МЕ/мл, при этом используются образцы сыворотки объемом 100 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

Человеческий тиреоглобулин (чТГ) представляет собой гликопротеин с высокомолекулярной массой (605 кДа), обнаруживаемый в фолликулярных клетках щитовидной железы. Он играет центральную роль в захвате, включении и регуляции биосинтеза тиреоидных гормонов Т4 и Т3. Болезни щитовидной железы в большинстве своем имеют аутоиммунное происхождение, и аутоантитела к анти-тиреоглобулину должны быть исследованы в первую очередь. Анти-чТГ обнаруживаются при всех аутоиммунных болезнях щитовидной железы (тиреоидит Хашимото, болезнь Грейвса), наиболее высокий уровень наблюдается при тиреоидите Хашимото. Анти-чТГ также являются маркером рака щитовидной железы, и их определение может использоваться для наблюдения за пациентами с раком щитовидной железы. Специфичность анти-чТГ аутоантител сложная, а образцы, взятые от различных пациентов, имеют различную реактивность в отношении эпитопов, представленных в молекуле чТГ.

Принцип метода

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

Образцы и калибраторы инкубируются вместе в присутствии ¹²⁵I-ТГ в пробирках, покрытых анти-ТГ. После инкубационного периода содержимое пробирок удаляется и производится измерение связанной радиоактивности с помощью гамма-счетчика.

Концентрация анти-ТГ обратно пропорциональна уровню радиоактивности, измеренному в пробирках. Путем построения калибровочной кривой, в которой отражаются полученные значения в сравнении с серией калибраторов, содержащих известное количество анти-ТГ, может быть определена концентрация анти-ТГ в образцах пациента.

Содержимое набора

1. 1 флакон МЕТКИ, 22 мл, готовой для использования. Содержит <260 кБк чТГ, меченного ¹²⁵I, в буфере с красным красителем и 0,1% NaN₃ в качестве консерванта.

2. 6 флаконов СТАНДАРТОВ (S0-S5), готовых для использования, 6 x 0,75 мл, содержащих человеческие анти-ТГ антитела в плазме человека с 0,1% NaN₃. Концентр.: 0, 30, 100, 300, 1000, 3000 МЕ/мл.

3. 2 флакона КОНТРОЛЬНЫХ СЫВОРОТОК (СI; СII), готовой для использования. 0,75 мл плазмы человека, содержащей 0,1% NaN₃.

Концентрация контрольных сывороток указана в сертификате качества, который прилагается.

4. 2 упаковки готовых для использования ПРОБИРОК С ПОКРЫТИЕМ. 2x50 пластиковых пробирок, 12x75 мм, покрытых моноклональным анти-чТГ антителом.

Упакованы в пластиковую коробку.

Сертификат качества

Листок-вкладыш

Необходимые материалы, инструменты и оборудование

Штатив для пробирок, высокоточные пипетки с одноразовыми наконечниками (100, 200 мкл и 1 мл), шейкер, полимерная пленка, абсорбирующая ткань, гамма-счетчик, дистиллированная вода.

Рекомендованные инструменты и оборудование

Пипетки для серийных впрыскиваний, диспенсер с резервуаром (вместо пипетки объемом 1 мл)

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 °С до 8 °С, если исследование проводится в течение 24 часов, иначе аликвоты должны быть приготовлены и сохранены в условиях глубокого замораживания (-20 °С). Перед использованием замороженные образцы должны быть разморожены и тщательно перемешаны. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов. Не использовать хилезные, гемолизированные и мутные образцы.

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 и хранение реактивов

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

ВНИМАНИЕ!

Уравновесьте все реактивы и образцы сыворотки до комнатной температуры. 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 общего количества (Т).

2. Внесите пипеткой **100 мкл** каждого СТАНДАРТА, КОНТРОЛЯ и ОБРАЗЦОВ в предварительно промаркированные пробирки.

3. Внесите пипеткой **200 мкл** МЕТКИ в каждую пробирку.

4. Прочно зафиксируйте штатив на шейкере. Плотнo закройте все пробирки полимерной пленкой. Включите шейкер и настройте подходящую скорость, чтобы жидкость постоянно вращалась или перемешивалась в каждой пробирке (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. Определите радиоактивность каждой пробирки в гамма-счетчике в течение как минимум 60 секунд.

9. Рассчитайте концентрацию анти-чТГ в образцах в соответствии с методикой расчета или с помощью специального оборудования.

Протокол исследования, методика введения

(все объемы представлены в микролитрах)

	Т	S0-S5	CI, CII	Р
Стандарт		100		
Контроль			100	
Образцы				100
Метка	200	200	200	200
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.

Рассчитайте 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-чТГ 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.

Типичные данные количественного определения

Пробирки	Среднее значение срп	V/Bo %	МЕ/мл
T	106 682	-	-
S0	53 684	100	0
S1	40 716	75.6	30
S2	29 954	55.7	100
S3	21 421	39.8	300
S4	14 772	27.4	1000
S5	11 092	20.6	3000
CI	33 344	62.0	69
СИ	24 155	44.4	205

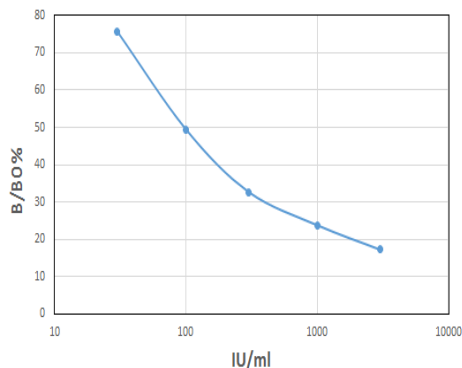


Рисунок 1.

Типичная стандартная кривая

(Не использовать для расчета значений неизвестных образцов)

Характеристика количественного определения

Калибровка

Стандарты калибруются в соответствии с международным стандартом NIBSC 65/93

Чувствительность

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

ПХ = 3,50 МЕ/мл, определяется как наивысший результат измерения, который может наблюдаться (с заявленной вероятностью [5%]) для холостого образца.

ПО = 8,29 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 = 13,0 МЕ/мл, как графически определяется из кривой профиля точности.

Точность и воспроизводимость

Для определения точности в ходе определения **внутри субъектной** **вариабельности** было проведено исследование 7 образцов сыворотки человека в 20 повторах. Ниже представлены полученные значения.

Образец	Среднее значение МЕ/мл	Внутри субъектная вариабельность CV%
1	702.39	13.95
2	345.12	18.52
3	79.27	7.34
4	40.82	9.96
5	26.97	7.52
6	15.84	15.45
7	12.67	14.73

Для определения точности в ходе определения **между субъектной** **вариабельности** было проведено исследование 7 образцов сыворотки человека дважды в 20 независимых анализах, проведенных 3 операторами, с использованием различных партий наборов. Ниже представлены полученные значения.

Образец	Среднее значение МЕ/мл	Внутри субъектная вариабельность CV%
1	801.0	16.1
2	369.1	12.3
3	78.8	7.3
4	40.5	7.4
5	28.3	8.7
6	17.4	11.7
7	10.4	24.9

Референтные значения

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

Патологическим значением в исследуемой популяции может считаться значение **более 100 МЕ/мл**.

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные интервалы референтных значений.

Полученные результаты должны быть интерпретированы только в соответствии с общей клинической картиной. Ни один из диагностических наборов не может быть использован в качестве единственного доказательства наличия какого-либо заболевания или нарушения.

Помехи

Никаких помех не наблюдалось до следующих концентраций:

Билирубин = 87 мкмоль/л,
Триглицериды = 27 ммоль/л,
Гемоглобин = 12,2 г/л,
Биотин = 1600 нг/мл

Специфичность (перекрестная реакция)

Перекрестной реактивности с анти-чТПО (1787 МЕ/мл) не наблюдалось.

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 пометить маркером.

2) **Источник ошибки!** Для обеспечения эффективного пользования, необходимо убедиться, что пробирки безопасно находятся в штативе. Никогда не используйте штативы с открытым отверстием. Неравномерное или неполное встряхивание может стать причиной низкой эффективности количественного определения.

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 (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-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*.

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 28 мг.

Условия хранения и срок годности

Хранить при температуре 2-8°C

Срок годности: 67 дней с момента готовности.

	Использовано		Номер партии
	Температурный предел		Контроль
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Стандарт
	Биологическая опасность		Пробирка с покрытием
	Обратитесь к инструкции по использованию		Метка
	Устройство для проведения диагностики in vitro		Производитель
	Номер по каталогу		Радиоактивный материал



Сайт: <http://www.izotop.hu>

Технический e-mail: immuno@izotop.hu

Коммерческий e-mail:

commerce@izotop.hu



ООО «Институт изотопов»
1535 Будапешт, Pф.: 851.