1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1 Набор РИА-$Т_3$-свободный-СТ предназначен для определения концентрации свободного $Т_3$ в сыворотке (плазме) крови человека методом радиоиммунологического анализа. Набор предназначен для применения только in vitro.

1.2 Количественное определение свободного трийодтиронина ($Т_3$ свободный) необходимо для диагностики и контроля за лечением нарушений функций щитовидной железы.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1 Состав набора:

- [^{125}I]-моноклональные антитела к $Т_3$, общая активность (150-250) кБк, жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон, 45 мл;
- пробирки полистирольные с иммобилизованным лигандом, готовы к использованию, 2х50 шт.;
- калибровочные пробы (на основе сыворотки крови человека), содержащие известные количества свободного $Т_3$ в диапазоне концентраций (0; 2–44) пмоль/л (точные значения концентраций свободного $Т_3$ указаны на этикетках флаконов), жидкие препараты, готовы к использованию, 5 флаконов по 1 мл;
- контрольные сыворотки (КС-1 и КС-2), жидкие препараты, готовы к использованию, 2 флакона по 1 мл.

2.2 Набор РИА-$Т_3$-свободный рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 неизвестных проб, 1 пробы общей активности [^{125}I]-моноклональных антител к $Т_3$, 5 калибровочных проб и 2 проб КС, всего 100 определений.

2.3 Продолжительность анализа 2,5 ч. Диапазон определяемых концентраций свободного $Т_3$ в образцах сыворотки (плазмы) крови человека – (0,5-44) пмоль/л.

2.4 Принцип метода

Радиоиммунологическое определение свободного трийодтиронина относится к конкурентным видам анализа с использованием меченых антител. Исследуемые образцы и калибровочные пробы инкубируют моноклональными антителами к $Т_3$, мечеными ^{125}I, в пробирках, покрытых аналогом $Т_3$ (лигандом).

Происходит конкуренция между свободным трийодтиронином, присутствующим в образцах и лигандом за связывание с мечеными антителами. После инкубации удаляют жидкое содержимое пробирок и измеряют связанную активность ^{125}I. Концентрацию свободного $Т_3$ определяют по калибровочной кривой методом интерполяции.

Значение связанной радиоактивности на стенках пробирок обратно пропорционально концентрации свободного трийодтиронина в образце.

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1 [^{125}I]-моноклональные антитела к $Т_3$ являются источником мягкого гамма-излучения. Период полураспада изотопа [^{125}I] – 60,04 сут.

При работе с набором следует соблюдать правила работы с радиоактивными веществами (далее-РВ) согласно требованиям санитарных норм и правил «Требования к обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при осуществлении деятельности по использованию атомной энергии и источников ионизирующего излучения», утверждённых Постановлением Министерства здравоохранения республики Беларусь № 137 от 31.12.2013 г.

ВНИМАНИЕ! Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с РВ, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

Запрещается при работе с РВ иметь на рабочем месте постороннее оборудование и личные вещи.

Категорически запрещается приём пищи, использование косметических принадлежностей и курение в помещениях, предназначенных для работы с РВ.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3.2 При работе с набором следует надевать спецодежду (халаты) и одноразовые резиновые перчатки, т.к. образцы человеческой крови следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные передавать ВИЧ, вирус гепатита или другие вирусные инфекции.

3.3 Работы проводить с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [2], [3]. В случае пролива сыворотки крови на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [4].

3.4 При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

3.5 Все радиоактивные отходы, образованные в процессе производства и использования набора собираются, хранятся и удаляются согласно санитарным нормам и правилам «Требования к обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при обращении с радиоактивными отходами» утверждённые постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 142 от 31.12.2015 г.

4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

4.1 Для проведения анализа необходимо использовать следующее оборудование:

- гамма-счетчик колодезного типа, позволяющий измерять активность изотопа [^{125}I];
- прибор для встряхивания пробирок вибрационного типа;
- водоструйный насос;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 0,02 до 5,00 мл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность должна быть не более 3 %);
- штатив для пробирок;
- перчатки хирургические резиновые.

5 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

5.1 Компоненты набора перед использованием необходимо выдержать при температуре (18-25) °С в течение 30 мин.

5.2 Хранение реагентов после вскрытия упаковки

Флаконы с реагентами закрывать колпачками сразу после использования, предупреждая их контаминацию.

В ходе анализа допускается хранение реагентов в течение 8 ч при температуре (18-25) °С в защищенном от света месте.

Все неиспользованные компоненты набора хранить в плотно закрытой первичной упаковке при температуре (2-8) °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора.

ВНИМАНИЕ! Все реагенты стабильны при (2-8) °С до окончания срока годности набора, указанного на этикетке. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

6.1 Перед использованием выдержать компоненты набора при температуре (18-25) °С в течение 30 мин.

6.2 Аналитические пробирки поместить в штатив и каждую пару пробирок маркировать обозначением той величины, для измерения которой они предназначены:

- Т – для определения общей активности [^{125}I]-моноклональных антител к T_3 в пробирке;
- B_0 – B_4 – для калибровочных проб свободного T_3;
- $B_{КС-1}$ и $B_{КС-2}$ – для контрольных сывороток;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- B_X – для исследуемых образцов сывороток (плазмы) крови.

6.3 В пробирки B_0 – B_4 внести по 0,1 мл (100 мкл) соответствующих калибровочных проб. В пробирки $B_{КС-1}$ и $B_{КС-2}$ внести по 0,1 мл (100 мкл) КС-1 и КС-2. В пробирки B_X внести по 0,1 мл (100 мкл) исследуемых образцов сывороток (плазмы) крови пациентов.

6.4 Во все пробирки внести по 0,4 мл раствора [^{125}I]-моноклональных антител к T_3.

6.5 Инкубировать все пробирки при постоянном встряхивании (не менее 350 встряхиваний в мин) в течение 2 ч при температуре (18-25) ^{o}C.

6.6 После окончания инкубации тщательно удалить из всех пробирок, кроме Т, жидкость с помощью водоструйного насоса.

6.7 Все пробирки поместить в гамма-счётчик и измерить скорость счета [^{125}I] в каждой пробирке в течение 1 мин.

6.8 Последовательность операций анализа приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Последовательность операций анализа

Пробирки (в дубликатах)	Последовательность операций		
	Калибровочные пробы, КС и исследуемые сыворотки или плазмы крови человека, мл	[^{125}I]-моноклональные антитела к T_3, мл	Инкубировать при постоянном встряхивании при температуре (18-25) ºС в течение 2 ч. Тщательно удалить из всех пробирок, кроме Т, содержимое с помощью водоструйного насоса.
Т	--	0,4	
B_0-B_4	0,1	0,4	
$B_{КС-1}$	0,1	0,4	
$B_{КС-2}$	0,1	0,4	
B_X	0,1	0,4	
Измерить скорость счета [^{125}I] в каждой пробирке в течение 1 мин			

7 РАСЧЕТЫ И ГРАФИЧЕСКИЕ ПОСТРОЕНИЯ

7.1 Найти среднее арифметическое значение скорости счета [^{125}I] для каждой пары пробирок.

7.2 Рассчитать соотношение B_0/Т, в %, где Т – общая активность [^{125}I]-моноклональных антител к T_3, измеряемая средней скоростью счета в пробирках Т; B_0 – средняя скорость счёта в пробирках, содержащих калибровочную пробу C_0.

7.3 Рассчитать соотношение Bi/B_0 или Bi/Т, в %, для каждой пары пробирок калибровочных, контрольных и неизвестных проб, где Bi – средняя скорость счета в пробирках, содержащих калибровочные, контрольные и неизвестные пробы.

7.4 Построить график зависимости Bi/B_0 или Bi/Т, в %, от концентрации свободного T_3 в калибровочных пробах в полулогарифмических координатах («сплайн» функция), откладывая на оси ординат (линейная) значения Bi/B_0 или Bi/Т, в %, а по оси абсцисс (логарифмическая) – значения концентраций свободного T_3 в пмоль/л в соответствующих калибровочных пробах.

Для неизвестных и контрольной проб сыворотки крови на основании соответствующих значений Bi /B_0 или Bi/Т, в %, по калибровочному графику определить содержание свободного T_3.

Для перевода значений концентраций из пмоль/л в пг/мл необходимо умножить полученный результат на 0,651.

8 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

8.1 Чувствительность

8.1.1 Минимальная достоверно определяемая концентрация свободного T_3 составляет 0,5 пмоль/л.

8.2 Специфичность

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.2.1 Перекрестная реакция моноклональных антител к T_3 со структурными аналогами трийодтиронина приведена в таблице 2.

Таблица 2 – Перекрестная реакция моноклональных антител к T_3 со структурными аналогами трийодтиронина

Исследуемые вещества	Перекрестная реакция, %
L-3,3',5-трийодтиронин (T_3)	100
L-3,3',5-трийодтироуксусная кислота	100
L-3,3',5'- трийодтиронин (T3r)	0,03
L-тироксин	0,15
D-тироксин	0,07

8.3 Воспроизводимость результатов

8.3.1 Коэффициент вариации при измерении свободного T_3 в образцах сыворотки (плазмы) крови человека в одной серии определений не превышает 6,4 %.

8.3.2 Коэффициент вариации при измерении свободного T_3 в образцах сыворотки (плазмы) крови человека в разных сериях определений не превышает 5,5 %.

8.4 Клиническая проверка

8.4.1 При клинических испытаниях набора диапазон концентраций свободного T_3 в сыворотке (плазме) крови 198 здоровых лиц составил (2,5 – 5,8) пмоль/л.

8.5 Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора РИА-T_3-свободный уточнить значения концентраций свободного T_3 соответствующие нормальным.

9 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1 Набор должен храниться при температуре (2-8) ºС в течение всего срока годности.

9.2 Срок годности набора – 84 сут.

9.3 Определение концентрации свободного T_3 с помощью набора РИА-T_3-свободный-СТ проводят в сыворотке или плазме крови человека. Плазму крови получают с использованием в качестве антикоагулянта ЭДТА.

Образцы сыворотки или плазмы крови хранят при температуре (2-8) °С, если анализ проводят в течение 24 ч после взятия крови. Образцы сыворотки или плазмы крови можно хранить при температуре не менее минус 20 °С в течение более длительного времени – не более 3 месяцев (допускается только однократное замораживание и размораживание образцов). Размораживание образцов проводят при комнатной температуре.

9.4 Исследуемые образцы сыворотки или плазмы крови следует проверять на остаточную активность радионуклидов, если обследуемому лицу до отбора крови вводили радиоактивные препараты.

9.5 Для отбора и добавления компонентов рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и воспроизводимость результатов пипетирования.

9.6 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора и квалифицированное проведение анализа.

Пояснения к символам

Графический символ	Его значение и объяснение
SN	**Серийный номер** Настоящий символ сопровождается указанием серийного номера изготовителя
	Использовать до Настоящий символ сопровождается датой, указывающей, что изделие рекомендуется использовать до истечения установленного срока; дата

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	состоит из четырех цифр, указывающих год, двух цифр, указывающих месяц, и двух цифр, указывающих день
IVD	**Изделие для диагностики in vitro**
	**Ограничение температуры** Рядом с верхней и нижней горизонтальными линиями указывается верхняя и нижняя границы температурного диапазона
	**Изготовитель** Настоящий символ сопровождается информацией о наименовании и адресе изготовителя
	**Содержимого достаточно для проведения n-тестирований** Настоящий символ сопровождается указанием количества определений
	**Знак радиационной опасности** Настоящий символ сопровождается указанием общей активности изотопа [^{125}I] в наборе, кБк

 УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси» ул. Академика В.Ф.Купревича, д.5, корп.3, 220141, г. Минск, Республика Беларусь

Тел./факс +375-17-369-82-57 E-mail:hopmang.bel@gmail.com http://www.hopiboh.org

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в БТК, тел. +375-17-268-87-38

Библиография

[1] Серия норм МАГАТЭ по безопасности, №ST-1
Правила безопасной перевозки радиоактивных материалов, 1996

[2] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.12.1998 № 351
«О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД»

[3] СП 17-69 РБ 98
«Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний» утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 29.04.1998 г. № 18

[4] Приказ № 165 МЗ РБ от 25.11.2002 г
«О проведении дезинфекции и стерилизации в учреждениях здравоохранения»

[5] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 29.07.2019 № 74
О проведении обязательных и внеочередных медицинских осмотров работающих.

[6] Постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 30.12.2005 № 284
Об утверждении Санитарных правил и норм 2.6.1.13-60-2005 "Гигиенические требования по обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при транспортировании радиоактивных материалов (веществ)".

Инструкция составлена сотрудниками УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»:

Начальник научно-технического отдела, к.б.н. А.И.Щербань

Инженер-технолог 2 категории Т.А.Бараненко

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru