1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1 Набор ИРМА-АНТИ-ТГ-СТ предназначен для определения концентрации специфичных к тиреоглобулину аутоантител класса IgG (анти-ТГ) в сыворотке или плазме крови человека методом иммунорадиометрического анализа. Набор предназначен для применения только in vitro.

1.2 Определение уровня анти-ТГ используется для диагностики аутоиммунных тиреоидных заболеваний – зоб Хашимото (хронический лимфоматозный тиреоидит), недиффузный тиреотоксический зоб (гипертрофия щитовидной железы), болезнь Грейвса (гипертрофия щитовидной железы с выпячиванием глазных яблок), первичная микседема и рак щитовидной железы.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1 Состав набора:

- [^{125}I]-белок А, жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон, 55 мл, общая активность должна быть не более 350 кБк;
- пробирки полистирольные с иммобилизованным тиреоглобулином, готовы к использованию, 100 шт.;
- шесть калибровочных проб в диапазоне концентраций антител к тиреоглобулину (0; 50-6000) МЕ/мл (точные значения концентраций анти-ТГ указываются на этикетках флаконов), жидкие препараты, готовы к использованию, 6 флаконов по 0,5 мл. Калибровочные пробы анти-ТГ откалиброваны относительно международного стандарта WHO NIBSC 65/093;
- контрольная сыворотка (КС), лиофилизованный из объема 0,5 мл препарат, содержащий известное количество анти-ТГ, 1 флакон;
- раствор для разведения сывороток (РРС), жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон, 125 мл;
- концентрат промывочного раствора (КПР), жидкий препарат, 1 флакон, 50 мл.

2.2 Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 неизвестных проб, 1 пробы общей активности [^{125}I]-белка А, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки, всего 100 определений.

2.3 Продолжительность анализа 5,5 ч.

2.4 Диапазон определяемых концентраций анти-ТГ (10-6000) МЕ/мл.

2.5 Принцип метода заключается в следующем. Иммунорадиометрическое определение анти-ТГ относится к неконкурентным анализам.

Во время 1 инкубации исследуемые образцы, контрольные и калибровочные пробы инкубируют в пробирках, покрытых тиреоглобулином. Антитела к тиреоглобулину, присутствующие в сыворотке или плазме крови человека, связываются с иммобилизованным на стенках пробирок тиреоглобулином. После окончания инкубации удаляют жидкое содержимое (несвязавшиеся компоненты), промывают пробирки для удаления неспецифически связанных комплексов.

Во время 2 инкубации с анти-ТГ связывается меченный [^{125}I]-белок А. Несвязавшуюся метку удаляют с помощью промывки пробирок и измеряют связанную активность [^{125}I].

Концентрацию анти-ТГ в неизвестных образцах находят по калибровочному графику зависимости связанной активности [^{125}I]-белка А от концентрации анти-ТГ в калибровочных пробах.

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1 [^{125}I]-белок А является источником мягкого гамма-излучения. Период полураспада изотопа [^{125}I] – 60,1 сут.

При работе с набором следует соблюдать правила работы с радиоактивными веществами (далее – РВ) согласно требованиям санитарных норм и правил «Требования к

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

обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при осуществлении деятельности по использованию атомной энергии и источников ионизирующего излучения», утвержденных постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 31.12.2013 г № 137.

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 прием пищи, использование косметических принадлежностей и курение в помещениях, предназначенных для работы с РВ.

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 сохранять и передавать гемоконтактные инфекции.

3.3 Работы проводить с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [2], [3], [4], [5]. В случае пролива сыворотки крови на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [6].

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

3.5 Все радиоактивные отходы, образованные в процессе использования набора собираются, хранятся и удаляются согласно постановлению 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)".

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;
- вихревой смеситель;
- водоструйный насос;
- магнитная мешалка;
- 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;
- пробирки пластмассовые вместимостью (3-5) мл с пробками;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- колба плоскодонная вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- 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.

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

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.

5.3 Приготовление промывочного раствора (разведение в 20 раз).

Внести в колбу плоскодонную вместимостью 1000 мл с помощью мерного цилиндра 950 мл дистиллированной воды, добавить содержимое флакона с концентратом промывочного раствора и тщательно перемешать на магнитной мешалке.

Приготовленный промывочный раствор может храниться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности набора.

5.4 Во флакон, содержащий КС, внести 0,5 мл дистиллированной воды. Через 10 мин осторожно перемешать содержимое флакона до полного растворения препарата, избегая образования пены. При вскрытии и растворении необходимо следить, чтобы на колпачках не осталось сухого вещества.

Раствор контрольной сыворотки может храниться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности набора.

5.5 Разведение контрольной сыворотки и исследуемых проб сыворотки или плазмы крови человека

5.5.1 Подготовить пластмассовые пробирки (не из набора) для разведения контрольной сыворотки и исследуемых проб сыворотки или плазмы крови человека.

5.5.2 Внести в соответствующие пробирки (на дно пробирок) по 0,025 мл (25 мкл) раствора контрольной сыворотки или исследуемых проб сыворотки или плазмы крови человека.

5.5.3 Внести во все пробирки по 0,5 мл (500 мкл) РРС и перемешать содержимое пробирок с помощью вихревого смесителя.

Разведенная контрольная сыворотка и исследуемые пробы сыворотки или плазмы крови человека могут храниться при (2-8) °С в течение 3 суток.

6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

6.1 Пробирки полистирольные с иммобилизованным тиреоглобулином маркировать следующим образом (в дубликатах):

Т – для определения общей активности [^{125}I]-белка А;

B_0-B_5 – для калибровочных проб анти-ТГ;

$B_{КС}$ – для КС;

B_X – для исследуемых проб сыворотки или плазмы крови человека.

6.2 В пробирки B_0-B_5 внести по 0,02 мл (20 мкл) соответствующих калибровочных проб. В пробирки $B_{КС}$ внести по 0,02 мл (20 мкл) предварительно разведенной (п.5.4) контрольной сыворотки. В пробирки B_X внести по 0,02 мл (20 мкл) предварительно разведенных (п.5.4) исследуемых сывороток/плазм крови человека.

6.3 Во все пробирки, кроме Т, внести по 0,5 мл (500 мкл) РРС.

6.4 Содержимое пробирок инкубировать в течение 2 ч при постоянном встряхивании (не менее 350 встряхиваний/мин) на приборе для встряхивания пробирок при температуре (18-25) °С.

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

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

6.6 Во все пробирки, кроме Т, внести по 2 мл (2000 мкл) промывочного раствора, подготовленного в соответствии с п.Б.5.2. Сразу после внесения удалить промывочный раствор из всех пробирок, кроме Т, с помощью водоструйного насоса. Повторить стадию промывки.

6.7 Во все пробирки внести по 0,5 мл (500 мкл) [^{125}I]-белка А.

6.8 Пробирки инкубировать в течение 2 ч при температуре (18-25) °С и постоянном встряхивании (не менее 350 встряхиваний/мин) на приборе для встряхивания пробирок.

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

6.10 В пробирки, кроме Т, внести по 2 мл (2000 мкл) промывочного раствора (п. 5.2). Сразу после внесения удалить промывочный раствор из пробирок с помощью водоструйного насоса.

После промывки в пробирках не должно оставаться следов красителя.

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

6.12 Последовательность операций анализа приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Последовательность операций анализа

Пробирки (в дубликатах)	Последовательность операций					
	Калибровочные пробы, разведенные КС и исследуемые сыворотки или плазмы крови человека, мл	РРС, мл	Инкубировать 2 ч при постоянном встряхивании при температуре (18-25) °С	Тщательно удалить из всех пробирок жидкость с помощью водоструйного насоса	Промывочный раствор мл	Сразу удалить промывочный раствор с помощью водоструйного насоса. Повторить стадию промывки.
Т	--	--			--	
B_0-B_5	0,02	0,5			2	
$B_{КС}$	0,02	0,5			2	
B_X	0,02	0,5			2	

Продолжение таблицы 1

Пробирки (в дубликатах)	Последовательность операций				
	[^{125}I]-белок А, мл	Инкубировать 2 ч при постоянном встряхивании при температуре (18-25) °С	Тщательно удалить из всех пробирок жидкость с помощью водоструйного насоса	Промывочный раствор мл	Сразу удалить промывочный раствор с помощью водоструйного насоса.
Т	0,5			--	
B_0-B_5	0,5			2	
$B_{КС}$	0,5			2	
B_X	0,5			2	
Измерить скорость счета [^{125}I] в каждой пробирке в течение 1 мин					

7 РАСЧЕТЫ И ГРАФИЧЕСКИЕ ПОСТРОЕНИЯ

7.1 Найти средние арифметические значения скоростей счета [^{125}I] для каждой пары пробирок. Из полученных значений скоростей счета, кроме значения скорости счета в пробирках Т, вычесть среднее арифметическое значение скорости счета в пробирках B_0.

7.2 Рассчитать величину (B_i-B_0)/(B_5-B_0), в процентах, для каждой калибровочной пробы, контрольной сыворотки или исследуемой сыворотки/плазмы крови человека, где B_i – среднее арифметическое значение скорости счета [^{125}I] в пробирках B_1-B_5, $B_{КС}$ и B_X.

7.3 Построить калибровочный график в полулогарифмических координатах, откладывая на оси ординат (линейная) значения (B_i-B_0)/(B_5-B_0), в процентах, а по оси абсцисс (логарифмическая) – значения концентраций анти-ТГ, в МЕ/мл, в соответствующих калибровочных пробах.

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

7.4 Определить по калибровочному графику концентрацию анти-ТГ, в МЕ/мл, в КС и исследуемых сыворотках или плазмах крови человека. При определении концентрации анти-ТГ фактор разведения не учитывается, так как он учтен при построении калибровочного графика.

8 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

8.1 Чувствительность

Минимальная концентрация анти-ТГ, определяемая с помощью набора, составляет не более 10 МЕ/мл.

8.2 Специфичность

Использование высокоочищенного ТГ для иммобилизации на пробирках обеспечивает высокую специфичность анализа.

При выполнении анализа возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е.HAMA), которые влияют на результат иммунного анализа. Влияние этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

8.3 Воспроизводимость результатов

Коэффициент вариации результатов определений (n=10) концентрации анти-ТГ в образцах сыворотки крови с низким, средним и высоким содержанием анти-ТГ не превышает 8%.

8.4 Тест на "открытие"

Процент "открытия" анти-ТГ, добавленного в образцы сыворотки крови с известной концентрацией анти-ТГ, составляет (90-110) %.

8.5 Тест на "линейность"

Процент открытия анти-ТГ при последовательном разведении пробы с высоким содержанием анти-ТГ составляет (80-120) %.

График, отражающий разведение сыворотки крови с высоким содержанием анти-ТГ, параллелен стандартному калибровочному графику. Следует иметь в виду, что результаты, полученные при разведении некоторых сывороток крови, могут иметь нелинейный характер, что является следствием гетерогенности аутоантител к ТГ.

8.6 Клиническая проверка набора

При использовании набора ИРМА-АНТИ-ТГ-СТ концентрация анти-ТГ в сыворотке крови здоровых лиц обоего пола (n=100) составляет в среднем 27,7 МЕ/мл; в 98 % сывороток концентрация анти-ТГ не превышает 100 МЕ/мл. Значения концентраций выше 150 МЕ/мл считаются патологическими, пациенты с результатами анализа в диапазоне (100-150) МЕ/мл нуждаются в динамическом наблюдении.

Приведенные значения являются ориентировочными. Рекомендуется в каждой лаборатории установить собственные уровни анти-ТГ, соответствующие нормальным.

Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данных других тестов и иной подходящей информации.

9 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

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

9.2 Срок годности набора – 60 суток.

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

9.3 Определение концентрации анти-ТГ с помощью набора ИРМА-АНТИ-ТГ-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 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 ОТК, тел. +375-17-268-87-38

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

Библиография

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

[2] Сборник нормативных документов по проблеме ВИЧ/СПИД. Утвержден приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.12.1998 г № 351

[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] Санитарные нормы и правила «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения вирусных гепатитов», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.02.2013 г. № 11

[5] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 25.11.2002 г № 165
«О проведении дезинфекции и стерилизации в учреждениях здравоохранения»

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

[7] 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