1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1 Набор РИА-T_4-СТ предназначен для количественного определения тироксина (T_4) в сыворотке или плазме крови человека методом радиоиммунологического анализа. Набор предназначен для применения только in vitro.

1.2 Количественное определение тироксина необходимо для диагностики и контроля за лечением нарушений функций щитовидной железы.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1 Состав набора:

- [^{125}I]-T_4, жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон, 55 мл, общая активность (80-110) кБк;
- пробирки полистирольные с иммобилизованными моноклональными антителами к T_4, готовы к использованию, 100 шт.;
- калибровочные пробы, содержащие известные количества T_4 в диапазоне концентраций (0; 25 – 400) нмоль/л (точные значения концентраций T_4 указываются на этикетках флаконов), жидкие препараты, готовы к использованию, 6 флаконов по 0,5 мл;
- контрольная сыворотка (КС) - жидкий препарат, содержащий известное количество T_4, готов к использованию, 0,5 мл, 1 флакон.

2.2 Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах: 43 неизвестных проб, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки, (всего 100 определений).

2.3 Продолжительность анализа 1,5 ч

2.4 Диапазон определяемых концентраций T_4 в образцах сыворотки или плазме крови человека (14 – 400) нмоль/л.

2.5 Принцип работы набора состоит в следующем: в аналитической пробирке, содержащей компоненты набора и образец сыворотки крови, во время инкубации устанавливается равновесие между [^{125}I]-T_4 и эндогенным гормоном анализируемого образца сыворотки крови с антителами, иммобилизованными на стенках пробирки. Количество связанного антителами [^{125}I]-T_4 находится в обратной зависимости от концентрации T_4 в крови.

Разделение свободного и связанного антителами T_4 осуществляют удалением инкубационной среды из пробирок с помощью водоструйного насоса.

Концентрацию T_4 в неизвестных образцах находят по калибровочному графику зависимости связанного [^{125}I]-T_4 от концентрации T_4 в калибровочных пробах.

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1 [^{125}I]-T_4 является источником мягкого гамма-излучения. Период полураспада изотопа [^{125}I] – 60,1 сут.

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

3.2 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., а так же соблюдение специфических санитарно-эпидемиологических требований к условиям труда работающих, утвержденных постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 1 февраля 2020 г. №66.

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.

3.3 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 ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

3.4 Организация технологических процессов и гигиенические требования к производственному оборудованию должны соответствовать требованиям санитарных норм, правил и гигиенических нормативов «Санитарно-эпидемиологические требования к условиям труда работающих, содержание и эксплуатация производственных объектов», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 19.07.2023 г. №114. Работы проводить с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [1], [2], [3], [4], [5], [6], [7]. В случае пролива сыворотки крови на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [8].

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

Все лица, занятые при производстве набора, должны проходить обязательный медицинский осмотр в соответствии с требованиями [9].

3.6 Все радиоактивные отходы, образованные в процессе использования набора собираются, хранятся и удаляются согласно Санитарным нормам и правилам «Требования к обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при обращении с радиоактивными отходами» утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь №142 от 31.12.2015 г., а так же согласно санитарным правилам и нормам 2.6.1.13-60-2005 «Гигиенические требования по

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

обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при транспортировании радиоактивных материалов (веществ)», утвержденным постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 30 декабря 2005 г. №284.

4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

4.1 Гамма-счетчик колодезного типа;

- прибор для встряхивания пробирок вибрационного типа;
- водоструйный насос;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,02; 0,5 мл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- штатив для пробирок;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

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 Пробирки с иммобилизованными моноклональными антителами к T_4 маркировать следующим образом (в дубликатах): B_0-B_5 – для калибровочных проб T_4; $B_{КС}$ – для контрольной сыворотки; 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) контрольной сыворотки. В пробирки B_X внести по 0,02 мл (20 мкл) исследуемых образцов сыворотки или плазмы крови человека.

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

6.3. Во все пробирки внести по 0,5 мл (500 мкл) [^{125}I]-T_4.

6.4. Инкубировать все пробирки в течение 1 ч при температуре (18-25) °С и постоянном встряхивании (не менее 350 встряхиваний в мин).

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

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

6.7 Последовательность внесения реагентов в пробирки и проведение других операций анализа приведена в таблице 1. Данную последовательность не нарушать!

Таблица 1

Пробирки (в дубликатах)	Последовательность операций			
	1	2	3	4
	Калибровочные пробы, контрольная сыворотка и исследуемые пробы, мл	[^{125}I]-T_4, мл	Пробирки инкубировать в течение 1 ч при температуре (18-25) °С и постоянном встряхивании.	Из всех пробирок удалить содержимое с помощью водоструйного насоса.
B_0	0,02	0,5		
B_1 - B_5	0,02	0,5		
B_{KC}	0,02	0,5		
B_X	0,02	0,5		
Примечание: 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.

7.2 Рассчитать величину $B_i/B_0 \times 100$, в %, для каждой калибровочной пробы, контрольной сыворотки и неизвестных проб, где B_i – среднее арифметическое значение скорости счета [^{125}I] в пробирках B_1-B_5, B_{KC} и B_X.

7.3 Построить калибровочный график в полулогарифмических координатах, откладывая по оси ординат (линейная) отношение $B_i/B_0 \times 100$, в %, а на оси абсцисс (логарифмическая) - значения концентраций T_4 (нмоль/л) в соответствующих калибровочных пробах.

7.4 По калибровочному графику определить содержание T_4 в исследуемых образцах сыворотки крови.

Для перевода молярной концентрации в массовую следует пользоваться соотношением:

нмоль/л × 7,77 = нг/100 мл

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

8 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

8.1 Специфичность

8.1.1 Перекрестная реакция антисыворотки со структурными аналогами T_4 приведена в таблице 2.

Таблица 2

Исследуемые вещества	Перекрестная реакция, %
L-тироксин (L-T_4)	100
D-тироксин (D-T_4)	33
3,3,5–трийодо-L-тиронин (L-T3)	0,8
3,3,5-трийодо-D-тиронин (D-T3)	10,2
3,3,5-трийодтироуксусная кислота	6,6
3,5-трийодтиропропионовая кислота	2,8

8.2 Чувствительность

8.2.1 Минимальная достоверно определяемая концентрация T_4, определяемая с помощью набора, составляет 14 нмоль/л.

8.3 Воспроизводимость результатов

8.3.1 Коэффициент вариации при измерении T_4 в образцах сыворотки крови с помощью набора РИА-T_4-СТ не превышает 8%.

8.4 Тест на "открытие"

8.4.1 В пробы (n=10) с измеренной концентрацией T_4 добавлялись известные количества гормона и измерялась концентрация T_4 в полученных пробах. Процент "открытия" составил 80-120.

8.5 Тест на "линейность".

8.5.1 Зависимость концентрации T_4 от разведения исходных образцов сыворотки крови доноров с различным содержанием эндогенного гормона калибровочной пробой C_0 имеет линейный характер и составляет 80-120 % от расчетной величины.

8.6 Клиническая апробация набора

8.6.1 Концентрация T_4 в сыворотке крови здоровых лиц в возрасте от 20 до 45 лет, определенная с помощью набора РИА-T_4-СТ, составила (60-160) нмоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить значения концентраций T_4, соответствующие нормальным.

9 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1 Компоненты набора должны храниться при температуре (2-8) ^{o}C в течение всего срока годности набора.

9.2 Срок годности набора – 60 суток.

9.3 Определение концентрации T_4 с помощью набора РИА-T_4-СТ проводят в сыворотке или плазме крови человека.

9.4 Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку, сыворотку с повышенным содержанием липидов.

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

Образцы сыворотки или плазмы крови хранят при температуре (2-8)°С, если анализ проводят в течение 24 ч после взятия крови. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре не менее минус 15-20 °С в течение более длительного времени (допускается только однократное замораживание и размораживание образцов). Размораживание образцов проводят при температуре (18-25)^{0}С.

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

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

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

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

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. +375-17-396-87-38

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

Библиография

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

[2] Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 г. №2

[3] Гигиенический норматив «Показатели безопасности и безвредности для здоровья человека изделий медицинского назначения, медицинской техники и материалов, применяемых для их изготовления», утвержденный Постановлением Министерства Республики Беларусь от 25.01.2021 №37

[4] Гигиенический норматив «Показатели безопасности и безвредности микроорганизмов-продуцентов, микробных препаратов и их компонентов, вредных веществ в воздухе рабочей зоны и на кожных покровах работающих», утвержденный Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 25.01.2021 №37

[5] Гигиенический норматив «Критерии оценки радиационного воздействия», утвержденный Постановлением Министерства Республики Беларусь от 25.01.2021 №37

[6] Гигиенические нормативы, устанавливающие требования к производственным факторам, утвержденные Постановлением Министерства Республики Беларусь от 25.01.2021 №37

[7] Санитарные правила и нормы 2.6.1.13-55-2005 «Гигиенические требования к обеспечению радиационной безопасности при проведении радионуклидной диагностики», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь № 273 от 28.12.2005 г.

[8] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь №165 от 25.11.2022 г. «О проведении дезинфекции и стерилизации в учреждениях здравоохранения»

[9] «Инструкция о проведении обязательных и внеочередных медицинских осмотров работающих», утвержденная Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 29.07.2017 г. №74

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