



LIAISON® fT3 (311531) Свободный Т3

1. Назначение

Количественное определение свободного трийодтиронина (свТ3) в человеческой сыворотке и плазме (цитрат, гепарин) методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIAISON®.

2. Введение

Щитовидная железа здоровых людей ежедневно секретирует около 5-10 мкг трийодтиронина (Т3). Однако Т3, циркулирующий в кровяном русле, образуется, главным образом, в результате периферийного деиодирования, в связи с чем дневная секреция общего Т3 достигает примерно 20 мкг. В сыворотке гормоны щитовидной железы находятся в виде комплекса с белками-носителями, биологической активностью обладают только фракции свободных гормонов.

Концентрация общего и свободного Т3 является хорошим биохимическим показателем степени токсичности гипертиреоза. Преимуществом измерения концентрации свТ3 по сравнению с общим Т3 заключается в том, что оно позволяет скорректировать изменения Т3-связывающих белков. Основным клиническим значением измерения свТ3 (или Т3) является идентификация пациентов с тиреотоксикозом, при котором концентрации Т4 и свТ4 лежат в пределах нормы, а титр Т3 повышается. Определение свТ3 также полезно для выявления больных гипертиреозом с бессимптомным течением, когда на фоне понижения концентрации тиреотропного гормона наблюдается нормальный уровень свТ3 и свТ4.

Беременность, а также прием оральных контрацептивов или эстрогенов могут привести к повышению концентрации общего Т3, тогда как концентрация свТ3, в основном, остается неизменной.

3. Принцип метода

Метод количественного определения свободного Т3 представляет собой конкурентный хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA), основанный на SPALT-принципе (Solid phase antigen linked technology). Молекулы Т3 связаны с магнитными микрочастицами, поликлональные антитела высокой аффинности к Т3 мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время инкубации молекулы Т3 присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, конкурируют с Т3, фиксированным на микрочастицах, за связывание с антителами, мечеными изолюминолом. После инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает количество конъюгата антител к Т3 с изолюминолом, связанного с твердой фазой, что, в свою очередь, обратно пропорционально концентрации свободного Т3 в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. Состав набора

1. Последовательность реагентов отражает порядок их расположения в картридже.

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые трийодтиронином, БСА, 0,09% азид натрия.
Калибратор 1 (1,0 мл)	Человеческая сыворотка, Т3, 0,09% азид натрия. Концентрация Т3 в калибраторе (пг/мл) определена с помощью внутреннего стандарта DiaSorin.
Калибратор 2 (1,0 мл)	Человеческая сыворотка, Т3, 0,09% азид натрия. Концентрация Т3 в калибраторе (пг/мл) определена с помощью внутреннего стандарта DiaSorin.
Конъюгат (12 мл)	Поликлональные овечьи антитела к трийодтирону, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолюминолом); фосфатно-солевой буфер; БСА; азид натрия.
Количество определений	100

Все реагенты готовы к использованию.

Необходимые материалы, не входящие в набор

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
Реакционные кюветы LIAISON® XL (кат.№ X0016) Одноразовые наконечники LIAISON® XL (кат.№ X0015) Набор запускающих реактивов LIAISON® XL (кат.№ 319200) Системная / промывочная жидкость LIAISON® (кат.№ 319100) Мешки для твердых отходов LIAISON® XL (кат.№ X0025) Набор растворов для обслуживания анализатора LIAISON® XL (кат.№ 310995)	Реакционные модули LIAISON® (кат.№ 319130) Набор запускающих реактивов LIAISON® (кат.№ 319102) или набор запускающих реактивов LIAISON® XL (кат.№ 319200) Реактив для ежедневной проверки анализатора LIAISON® (кат.№ 319150) Системная / промывочная жидкость LIAISON® (кат.№ 319100) Мешки для отработанных реакционных модулей LIAISON® (кат.№ 450003) Набор растворов для обслуживания анализатора LIAISON® (кат.№ 310990)

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

Контроль тиреоидной панели 1, гипо (каталожный номер 389219)

Контроль тиреоидной панели 2, норма (каталожный номер 389229)

Контроль тиреоидной панели 3, гипер (каталожный номер 389239)

5. Предупреждение

Только для *In vitro* диагностики.

Все образцы человеческой сыворотки/плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, а также HBs-антигена и были признаны отрицательно реагирующими в вышеуказанных тестах. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с набором, как с потенциально инфекционным.

6. Меры предосторожности

Запрещено есть, пить, курить и использовать косметические средства в лаборатории.

Не пипетируйте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта с потенциально инфекционными материалами, надевайте защитную одежду, защитные очки и одноразовые перчатки. Тщательно мойте руки после работы.

Избегайте разбрызгивания растворов и образования аэрозолей. В случае разбрызгивания реактивов протрите поверхность 5% раствором гипохлорита натрия.

Рекомендуется обращаться с пробами, реактивами и материалами биологического происхождения, как с потенциально способными к переносу инфекционных агентов. Необходимо утилизировать отходы в соответствии с местными требованиями санитарно-эпидемиологического контроля и экологического контроля. Любые материалы перед повторным использованием должны быть автоклавированы при температуре 121°C в течение 1 часа, перед утилизацией жидких отходов необходимо провести их обеззараживание добавлением гипохлорита до конечной концентрации 5% и выдержать в течение получаса.

Реагенты содержат азид натрия (<0,1%) [ЕС no: 247-852-1]

Директива	ЕС №1272/2008
Уровень опасности	EUN 210 – паспорт безопасности доступен по запросу

7. Подготовка интегрального картриджа реактивов.

Пожалуйста, примите к сведению следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Перед тем, как поместить набор на инструмент, нужно полностью ресуспендировать магнитные частицы. Для обеспечения полного ресуспендирования следуйте этапам, указанным ниже:

Прежде чем снять пломбу, поворачивайте маленькое колесико в отсеке магнитных частиц до тех пор, пока суспензия не станет коричневого цвета. Осторожное и мягкое поперечное перемешивание может помочь в суспендировании магнитных частиц (избегайте образования пены). Визуально проверяйте дно флакона с магнитными частицами, чтобы убедиться, что ресуспендировались все осевшие магнитные частицы. Осторожно протрите поверхность каждой перегородки, чтобы удалить остаточную жидкость.

При необходимости повторите процедуру, пока магнитные частицы полностью не ресуспендируются.

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальную работу набора, следует избегать вспенивания реагентов. Придерживайтесь рекомендаций, указанных ниже, чтобы избежать вспенивания:

Перед использованием набора визуально проверяйте реагенты, особенно калибратор (позиция два и три после флакона с магнитными частицами), чтобы убедиться, что нет пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц есть пена, поместите набор на инструмент и подождите, пока пена рассеется. После этого поместите набор в зону реагентов.

Загрузка набора в зону реагентов

Анализаторы LIAISON®

Поместите набор в зону реагентов анализатора так, чтобы этикетка штрих-кода смотрела налево, и оставьте его там перед использованием на 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки образцов и запуска цикла.

Анализаторы LIAISON® XL

Анализатор LIAISON® XL оборудован встроенным твердотельным магнитным элементом, который помогает рассеивать микрочастицы до помещения набора реагентов в зону реагентов анализатора. Более подробную информацию см. в инструкции по эксплуатации анализатора.

Вставьте набор реагентов в специальный слот.

Оставьте набор реагентов в твердотельном магнитном элементе минимум на 30 секунд (вплоть до нескольких минут). При необходимости повторите.

Поместите набор в зону реагентов анализатора так, чтобы этикетка смотрела налево, и оставьте его там перед использованием на 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки образцов и запуска цикла.

7.2. Контроли

Обратитесь к инструкциям LIAISON® Тироид контроль 1 / LIAISON® Тироид контроль 2 / LIAISON® Тироид контроль 3 для получения информации о правильной подготовке контролей.

8. Хранение и стабильность интегрального картриджареактивов

8.1. Невскрытые: стабильны при температуре 2-8°C до окончания срока годности.

Вскрытые, хранящиеся на борту или при температуре 2-8°C: стабильны 4 недели (см. п. 12)

После этого периода все еще можно продолжать использовать интеграл реагентов при условии, что контроли находятся в ожидаемых диапазонах. Всегда используйте один и тот же анализатор LIAISON® для уже открытого интеграла реагента. Хранить в вертикальном положении, чтобы облегчить последующее надлежащее ресуспендирование магнитных частиц. Используйте стеллаж для хранения, поставляемый с семейством анализаторов LIAISON®, для вертикального хранения интегрального реагента.

Хранить вдали от прямого света.

9. Подготовка исследуемого материала

Сбор образцов следует осуществлять по стандартным методикам. Материалы для исследования: сыворотка или плазма. Цитрат, ЭДТА плазма и гепарин могут быть использованы в качестве антикоагулянтов.

Если тестирование не осуществляется в день забора образца, сыворотка/плазма должны быть отделены от осадка и храниться в отдельной пробирке.

Хранить при температуре 2-8°C: 24 часа.

Для более длительного периода хранения: заморозить образцы при температуре ниже -20°C. Избегайте повторного оттаивания/замораживания пробы.

Забранные образцы должны быть тщательно перемешаны до тестирования (на вортексе).

Образцы с грубым гемолизом или липемией, а также образцы, содержащие твердые частицы или имеющие явное микробное загрязнение, не следует тестировать.

Не используйте свернувшиеся образцы.

Минимально необходимый объем 200 µл (50 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

10. Калибровка

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла. Калибраторов достаточно для проведения 6 калибровок.

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 2 недель с момента последней калибровки.

- Используется новый набор реактивов(рекомендация).
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Анализатор LIAISON®: значения калибратора хранятся в штрих-кодах на встроенной этикетке.

Анализатор LIAISON® XL: Значения калибратора хранятся в приемоответчике радиочастотной идентификации (метка RFID).

11. Процедура анализа

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

Анализатор LIAISON®: каждый тестовый параметр идентифицируется штрих-кодами на этикетке с реагентом. В случае, если этикетка со штрих-кодом не может быть прочитана анализатором, интеграл не может быть использован. Не выбрасывайте интеграл реагента; обратитесь в местную службу технической поддержки DiaSorin за инструкциями.

Анализаторы LIAISON® XL. Каждый диагностический параметр идентифицируется посредством информации, зашифрованной в ретрансляторе радиочастотной идентификации (ярлык РЧИД) набора реагентов. В случае если ярлык РЧИД не считывается анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте набор реагентов; свяжитесь с местным отделом технической поддержки компании DiaSorin для получения инструкций.

Подробнее см. В руководстве по эксплуатации анализатора.

Операции для анализатора LIAISON® следующие:

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление конъюгата.
3. Инкубация.
4. Добавление магнитных частиц (Твердой фазы) в реакционный модуль
5. Инкубация.
6. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
7. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

Операции для анализатора LIAISON® XL следующие:

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционную кювету.
2. Добавление конъюгата.
3. Инкубация.
4. Добавление магнитных частиц (Твердой фазы) в реакционную кювету.
5. Инкубация.
6. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
7. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

12. Контроль качества

Для мониторинга выполнения анализа контроля следует запустить однократно. Контроль качества может проводиться при помощи контрольного материала DiaSorin или при помощи коммерческих контрольных материалов:

- не менее одного раза в день использования,
- каждый раз, когда используется новый набор реагентов,
- каждый раз после калибровки набора,
- каждый раз, когда используется новая партия стартовых реагентов,
- для оценки соответствия рабочих характеристик открытого набора по истечении 4 недель, либо в соответствии с директивами или требованиями местных норм или аккредитованных организаций.

Контрольные значения должны находиться в ожидаемых пределах: каждый раз, когда показатели одного из контролей выходят за ожидаемые пределы, следует повторить калибровку и заново проанализировать контроли. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, повторно выходят за предварительно определенные пределы, следует повторить анализ, используя запечатанный флакон контроля. Не записывайте результаты анализов пациентов, если результаты контролей не будут в ожидаемых пределах.

Перед использованием других контролей сначала следует оценить их характеристики на предмет совместимости с данным анализом. В таком случае следует установить подходящие диапазоны значений для используемых материалов для контроля качества.

13. Интерпретация результатов.

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию свободного ТЗ в пг/мл. За более подробной

информацией обратитесь к Инструкции пользователя. Калибраторы и контроли могут давать разные RLU или результаты дозировки на LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты пациента эквивалентны.

13.1. Стандартизация

Тест был откалиброван при помощи внутреннего референсного стандарта.

13.2. Диапазон измерения

LIAISON® FT3 измеряет концентрации до 30 пг/мл.

Перевод единиц измерения:

$1 \text{ пмоль/л} \times 0.65 = 0.65 \text{ пг/мл}$
$1 \text{ пг/мл} \times 1.54 - 1.54 \text{ пмоль/л}$

13.3. Референсный диапазон (исследован для сывороток)

Нормальный диапазон (1-99 перцентиль):	2.2 – 4.2 пг/мл	(3.39 – 6.47 пмоль/л)
Медиана:	2.9 пг/мл	(4.47 пмоль/л)

Диапазон измерялся у 518 здоровых пациентов. Каждой лаборатории следует установить собственные референсные значения в связи с наличием небольших различий в регионах исследований.

14. Ограничения

Реагенты следует использовать только на анализаторах линейки LIAISON®.

Одинарные компоненты набора реагентов нельзя удалять из набора.

Набор нельзя использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке.

Для получения надежных результатов требуется умелая техника и строгое соблюдение инструкций.

Бактериальное заражение или термоинактивация образцов может повлиять на результаты.

Тяжелые нетиреоидальные состояния (например, выраженные в виде синдрома низкого Т3), а также прием лекарств с определенными лекарственными средствами (например, глюкокортикоидами) могут привести к уменьшенным значениям FT3.

Уровни FT3 в сыворотке крови не свидетельствуют о наличии или отсутствии заболеваний щитовидной железы. Их всегда следует интерпретировать в контексте клинической картины и других диагностических процедур. Любое терапевтическое решение также должно приниматься в каждом конкретном случае. Хотя добавляются нейтрализующие агенты, чрезвычайно высокие концентрации человеческих антител против овец могут иногда влиять на результаты.

Интегралы нельзя обменивать между типами анализаторов (LIAISON® и LIAISON® XL).

Как только интеграл введен в конкретный тип анализатора, он всегда должен использоваться в этом анализаторе, пока он не будет исчерпан. Из-за проблем прослеживаемости, вытекающих из вышеприведенного утверждения, последующие наблюдения пациентов могут не быть заключены между типами анализаторов. Это

должно быть выполнено на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON® или LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1. Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность можно определить, как способность анализа точно выявить конкретный аналит в присутствии потенциально интерферирующих факторов в матрице образцов (например, гемолиз, липемия, билирубинемия).

15.2. Интерференция

Контролируемые исследования потенциально интерферирующих веществ или условий показали, что на результаты анализа не влияли концентрации билирубина <0,2 мг / мл, гемоглобина <1000 мг / дл или триглицеридов <30 мг / мл.

15.3. Кросс-реакции

Перекрестная реактивность используемого трийодтиронинового антитела:

L-T2	0.008 %
D-T4	0.007 %
L-T4	0.005 %
3,5-дийодо-L-тирозин	Не определяется
Трийодтироуксусная кислота	0.313 %
L-тирозин	Не определяется
rT3	Не определяется

Интерференция с лекарственными препаратами

Любые перекрестные реакции с ацетилсалициловой кислотой, салициловой кислотой, ANS, 6п-пропил-2-тиоурацилом, фенилбутазоном, дифенилгидантоином, амиодароном, фуросемид и DL-пропранолол в терапевтических диапазонах не обнаружены.

15.4. Точность с анализатором LIAISON®

Различные образцы, содержащие разные концентрации FT3, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивости в пределах и между анализами).

Вариация внутри анализа			Изменения между анализами		
Сред. Знач. (пг/мл)	К.В. (%)	Число определений	Сред. Знач. (пг/мл)	К.В. (%)	Число определений
1.01	4.6	20	1.96	6.3	20
2.01	2.8	20	3.64	4.2	20
3.80	1.7	20	9.79	2.9	20
13.80	1.4	20	13.05	3.9	20

Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между лабораториями и местоположениями.

15.5. Точность с анализатором LIAISON® XL

Различные образцы, содержащие разные концентрации FT3, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивости в пределах и между анализами).

Вариация внутри анализа			Изменения между анализами		
Сред. Знач. (пг/мл)	К.В. (%)	Число определений	Сред. Знач. (пг/мл)	К.В. (%)	Число определений
1.20	4.7	20	1.66	4.7	20
2.08	3.0	20	9.13	2.4	20
3.84	3.2	20	3.67	3.7	20
14.38	2.6	20	13.50	4.7	20

Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между лабораториями и местоположениями.

15.6. Отсутствие погрешностей

Точность этого теста была доказана в различных корреляциях с радиоактивными и нерадиоактивными наборами как во внешних, так и во внутренних измерениях.

15.7. Аналитическая и функциональная чувствительность

Аналитическая чувствительность:

Аналитическая чувствительность определяется как минимальная определяемая доза, отличимая от нуля двумя стандартными отклонениями.

Функциональная чувствительность:

Функциональная чувствительность (определяется как самая низкая концентрация аналита, которая может быть определена с помощью CV между анализами <20%):

	Аналитическая чувствительность	Функциональная чувствительность
LIAISON® анализатор	0,3 пг/мл	1 пг/мл

Литература

1. Kaplan MM. Assessment of Thyroid Function During Pregnancy. Thyroid 1992; 2 (2): 57-61
2. Keffer JH. Preanalytical considerations in testing thyroid function. Clin Chem 1996; 42 (1): 125-134
3. Klee GG. Clinical usage recommendations and analytic performance goals for total and free triiodothyronine measurements. Clin Chem 1996; 42 (1): 155-159
4. Lindstedt G, Berg G, Jansson S, Törring O, Valdemarsson S, Warin B, Nyström E. Clinical Use of Laboratory Thyroid Tests and Investigations. JIFCC 1994; 6 (4): 136-141
5. Piketty ML, D'Herbomez M, Le Guillouzic D, Lebtahi R, Cosson E, Dumont A, Dilouya A, Helal BO. Clinical comparison of three labeled antibody immunoassays of free triiodothyronine. Clin Chem 1996; 42 (6): 933-941
6. White GH. Recent Advances in Routine Thyroid Function Testing. CRC Critical Reviews of Clinical Laboratory Sciences 1987; 24 (4): 315-362