



DiaSorin S.p.A.
Strada per Crescentino - 13040 Saluggia (Vercelli) - Italy
Tel. 39.0161.487.093 - Fax 39.0161.487.628



LIAISON® FT4 (311611)

Свободный Т4

1. Назначение

Количественное определение свободного тироксина (свТ4) в человеческой сыворотке и плазме методом хемиллюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIAISON®.

Использовать только для “*in vitro*” диагностики.

2. Введение

Щитовидная железа секретирует тироксин (Т4) в кровяное русло, где более 99,9% гормона образует комплекс с белками-носителями. Только фракция свободного тироксина (свТ4) обладает физиологической активностью. Свободный тироксин оказывает стимулирующее действие на метаболизм и выступает в роли регулятора обратной связи гипоталамогипофизарно-тироидной оси. В отличие от определения общего Т4, определение свободного Т4 не зависит от связывающих белков (тироксин-связывающего глобулина ТСГ, тироксин-связывающего преальбумина ТСПА, альбумина). В связи с тем, что чувствительность и специфичность определения свТ4 по отношению к нарушениям функций щитовидной железы выше по сравнению с общим Т4, необходимо измерять его уровень в крови пациентов с аномалиями связывающих белков.

Аномалии связывающих белков могут быть следующими:

- врожденными, например, семейная дизальбуминемическая гипертироксинемия, преальбумин-ассоциированная гипертироксинемия, врожденная нехватка ТСГ;
- физиологическими, например, беременность, перинатальный период;
- обусловленными лекарственными препаратами, например, контрацептивами, салицилатами, гепарином;
- обусловленными тяжелыми причинами (нетиреоидными заболеваниями), например хронической почечной недостаточностью, инфарктом миокарда, острым гепатитом, циррозом печени, нервной анорексией, тяжелыми инфекциями, постоперационными и посттравматическими состояниями.

Свободный тироксин позволяет осуществить клиническую дифференциацию эутироидных гипертироксинемий от гипертиреозов и гипотиреозов.

3. Принцип метода

Метод количественного определения свободного Т4 представляет собой конкурентный 2-ступенчатый хемиллюминесцентный иммуноанализ (CLIA), основанный на SPALT-принципе (Solid phase antigen linked technology). Молекулы Т4 связаны с магнитными микрочастицами, моноклональные мышиные антитела высокой аффинности к Т4 мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время инкубации молекулы Т4 присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, конкурируют с Т4, 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 хемиллюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает количество конъюгата Т4 с изолюминолом, связанного с твердой фазой, что, в свою очередь, обратно пропорционально концентрации свободного Т4 в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. Состав набора

1. Картридж реактивов

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые молекулами тироксина, 0,09% азид натрия.
Калибратор 1 (1 мл)	Человеческая сыворотка, Т4, 0,09% азид натрия. Концентрация Т4 в калибраторе (нг/дл) определена с помощью метода симметричного диализа.
Калибратор 2 (1 мл)	Человеческая сыворотка, Т4, 0,09% азид натрия. Концентрация Т4 в калибраторе (нг/дл) определена с помощью метода симметричного диализа.
Конъюгат (23 мл)	Тироксин, меченный производным изолуминола (аминобутилэтилизолуминолом); Трис-буфер; БСА; азид натрия, мышинные IgG.
Количество определений	100

Все реагенты готовы к использованию. Порядок расположения реактивов в таблице отражает их расположение в картридже реактивов.

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)	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 раствором гипохлорита натрия с 0,5% раствором активного хлора.

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, установленные в каждой стране. Любые материалы перед повторным использованием должны быть стерилизованы в соответствии с местными законами и протоколами. Проверьте эффективность циклов стерилизации/деконтаминации. Не используйте компоненты по истечению срока годности, указанного на

этикетке.

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 ресуспендировании 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 картриджа реактивов

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено. Избегайте попадания прямых солнечных лучей.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно в течение не менее 2 недель при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора. После окончания этого периода использование интеграла возможно при условии, если результаты исследования контрольных сывороток лежат в допустимых пределах.

9. Подготовка исследуемого материала

Соберите образцы, соблюдая стандартные процедуры.

Материал образца: сыворотка, плазма.

Если анализ проводится не в день сбора образцов, сыворотку/плазму следует отделить от осадка и хранить в отдельной пробирке.

Хранить при температуре 2-8°C: 24 ч.

Для более длительного хранения: заморозить до низкой температуры -20°C.

Избегать многократных циклов замораживания и размораживания.

Перед использованием хранящиеся образцы следует тщательно перемешать (Вортекс-миксером).

Макроскопически гемолизированные или липемические образцы, а также образцы, содержащие твердые частицы или имеющие явные признаки микробного загрязнения, анализировать нельзя.

Не используйте свернувшиеся образцы.

Минимальный объем, требуемый для однократного измерения – 200 мкл образца (50 мкл образца + 150 мкл мёртвого объёма).

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.

Калибровка должна быть проведена в двух повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Используется новый интеграл (рекомендация).
- Прошло более 2 недель с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.
- Изменение температуры окружающей среды превышает 5°C (рекомендация).

11. Процедура анализа

Строгое следование инструкции по эксплуатации анализатора гарантирует надлежащее выполнение анализа.

Анализаторы LIAISON®. Каждый диагностический параметр идентифицируется посредством штрих-кодов на этикетке набора. Если штрих-код не считывается анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте набор реагентов; свяжитесь с местным отделом технической поддержки компании DiaSorin для получения инструкции.

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.

Операции для анализатора LIAISON® следующие:

1. Распределите образцы, калибраторы или контроли в реакционный модуль
2. Распределите покрытые магнитные частицы (Твердая фаза) и Конъюгат
3. Инкубируйте
4. Промойте с помощью промывочной /системной жидкости
5. Добавьте стартовый набор и измерьте излучаемый свет

Операции для анализатора LIAISON® XL следующие:

1. Распределите покрытые магнитные частицы (Твердая фаза) и Конъюгат в реакционные кюветы
2. Распределите образцы, калибраторы или контроли
3. Инкубируйте
4. Промойте с помощью промывочной /системной жидкости
5. Добавьте стартовый набор и измерьте излучаемый свет

12. Контроль качества

Для мониторинга выполнения анализа контроли следует запустить однократно:

- 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 Т4 свободного в неизвестных образцах в нг/дл. Более подробную информацию см. в инструкции по эксплуатации анализатора.

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 с использованием симметричного диализа.

13.2. Диапазон анализа

LIAISON® Свободный Т4 измеряет концентрации до 10 нг/дл.

Коэффициент пересчёта

$1 \text{ пмоль/л} \times 0.078 = 0.078 \text{ нг/дл}$
--

$1 \text{ нг/дл} \times 12.870 = 12.870 \text{ пмоль/л}$
--

13.3. Референсные значения (измеренные в сыворотке)

Нормальные значения (1-99й перцентиль):	0.8 - 1.7 нг/дл (10.29-21.88 пмоль/л)
---	---------------------------------------

Данный диапазон был получен путем постановки образцов 517 пациентов с отсутствием заболеваний щитовидной железы.

Каждая лаборатория должна устанавливать собственные референсные значения в связи с возможными различиями в каждом регионе.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

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 термонактивация образцов может повлиять на результаты.

В условиях эутиреоза уровни Т4 и связывающего белка одновременно снижаются или повышаются, в то время как уровень свободного тироксина находится в пределах нормы. Однако гипотиреоз всегда связан со снижением значений свободного тироксина, тогда как для гипертиреоза верно обратное. В этих условиях аномалии связывания белка могут быть вызваны либо изменениями концентраций ТВГ, ТВРА и ТВА, либо изменениями аффинности связывания этих белков. Таким образом, клинические данные должны всегда учитывать все физиологические, патологические или связанные с лекарством изменения в условиях / возможностях связывания таких белков.

Уровни FT4 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.

Несмотря на то, что добавляются НАМА-нейтрализующие агенты, чрезвычайно высокие концентрации НАМА (человеческих антител против мыши) 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 <0,125 мг / мл, гемоглобина <1000 мг / дл или триглицеридов <30 мг / мл.

15.3. Кросс-реакции

Перекрестная реактивность используемого тироксинового антитела:

L-тирозин 0%

L-T3 <2%

D-T3 <2%

15.4. Интерференция с лекарственными веществами

Каких-либо перекрестных реакций с ацетилсалициловой кислотой, салициловой кислотой, фенилбутазоном, дифенилгидантоином, амиодароном, ANS, фуросемидом и D-пропранололом в терапевтических диапазонах не обнаружено.

15.5. Точность анализаторов LIAISON®

Различные образцы, содержащие разные концентрации FT4, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивость внутри и между анализами).

Вариабельность в пределах одного анализа			Вариабельность между несколькими анализами		
Среднее значение (мМЕ/л)	Коэффициент вариации (%)	n*	Среднее значение (мМЕ/л)	Коэффициент вариации (%)	n*
0.39	2.4	20	0.48	4.8	23
0.90	1.6	20	0.90	3.7	31
1.47	1.1	20	1.53	2.9	32
3.00	2.4	20	3.02	3.3	31
6.36	2.0	20	6.36	3.2	30

*Число определений

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

15.6. Точность анализаторов LIAISON® XL

Различные образцы, содержащие разные концентрации FT4, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивость внутри и между анализами).

Вариабельность в пределах одного анализа			Вариабельность между несколькими анализами		
Среднее значение (мМЕ/л)	Коэффициент вариации (%)	n*	Среднее значение (мМЕ/л)	Коэффициент вариации (%)	n*
0.33	3.3	20	0.35	4.4	20
0.89	2.0	20	1.01	2.9	20
2.22	2.0	20	3.09	2.5	20
7.24	2.1	20	8.13	2.0	20

*Число определений

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

15.7. Отсутствие погрешностей

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

15.8. Аналитическая чувствительность

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

	Аналитическая чувствительность
LIAISON® анализатор	0,1 нг/дл