



LIAISON® T4 (311411) Общий Т4

1. Назначение

Количественное определение общего тироксина (Т4) в человеческой сыворотке и плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIAISON®.

2. Введение

Щитовидная железа здоровых людей ежедневно секретирует около 80 мкг тироксина (Т4) и 5-10 мкг трийодтиронина (Т3). В сыворотке более 99,9% гормонов щитовидной железы обратимо связаны с белками-носителями, биологической активностью обладают только фракции свободных гормонов.

Количественное определение общего тироксина обычно проводят в случае наличия подозрений на заболевания щитовидной железы. В случае первичного заболевания нормальная или увеличенная щитовидная железа самостоятельно секретирует повышенное количество тиреоидных гормонов. При этом могут наблюдаться следующие патологические состояния: гипертиреоз с или без зоба; автономная токсическая аденома; гипертиреоз, вызванный аденокарциномой щитовидной железы, или гипертиреоз, связанный с тиреоидитом.

Гипотиреозы сопровождаются недостаточным снабжением клеток тиреоидными гормонами. Гипотиреозы можно разделить на первичные (развивающиеся в результате, например, струм-эктомии, терапии радиоактивным йодом, приема высоких доз йода, серьезного дефицита йода) и вторичные (патологии гипофиза, например, дефицит ТТГ при полной или частичной недостаточности передней доли гипофиза).

Определение сывороточного тироксина полезно для дифференциации гипо- и гипертиреоза при эндокринной офтальмопатии, слабом зобе, автономной аденоме, рецидиве гипертиреоза и общего мониторинга лечения всех типов нарушений функций щитовидной железы.

3. Принцип метода

Метод количественного определения общего Т4 представляет собой конкурентный 1-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Поликлональные антитела к Т4 связаны с магнитными микрочастицами, молекулы Т4 мечены производным изолюминола (конъюгат антигена с красителем). Во время инкубации молекулы Т4 присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, конкурируют с Т4, меченым изолюминолом, за взаимодействие с твердой фазой. 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 связанного с магнитными частицами конъюгата Т4 с изолюминолом, которое, в свою очередь, обратно пропорционально концентрации Т4 в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. Состав набора

1. Картридж реактивов

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые овечьими поликлональными антителами к тироксину, БСА, 0,09% азида натрия.
Калибратор 1 (1 мл)	Человеческая сыворотка, Т4, 0,09% азид натрия.
Калибратор 2 (1 мл)	Человеческая сыворотка, Т4, 0,09% азид натрия.
Конъюгат (23 мл)	Тироксин, меченный производным изолюминола (аминобутилэтилизолюминолом); БСА; азид натрия.
Количество определений	100

Все реагенты готовы к использованию.

Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
Кюветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025) Набор растворов для обслуживания игл дозаторов и моющей станции (каталожный номер 310995).	Реакционные модули (каталожный номер 319130). Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 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

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику в лаборатории, где проводятся анализы. Не пипетируйте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая защитную одежду, такую как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. В конце каждого анализа тщательно мойте руки.

Избегайте всплесков или образования аэрозолей. Любую утечку биологического реагента следует смыть с помощью раствора гипохлорита натрия с 0,5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в анализе, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты. С отходами следует обращаться с осторожностью и утилизировать их в соответствии с лабораторными нормами и нормами законов, действующими в стране.

Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и нормами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

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

DIRECTIVE	EC No. 1272/2008
HAZARD / RISK STATEMENTS	EUH 210 - Safety data sheet available on request

7. Подготовка интегрального картриджа реактивов.

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор.

Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл

горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов. Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

Установка интеграла в область загрузки реактивов

Анализатор LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.

б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

7.2. Контроли

- Для правильной подготовки контролей к работе и использованию их, обратитесь к инструкции контролей LIAISON® Control Thyroid 1 / LIAISON® Control Thyroid 2 / LIAISON® Control Thyroid 3.

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.

Невыскранные 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

Сыворотка или плазма. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Для поддержания цельности пробы добавление дополнительных консервантов не требуется. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузыри с ее поверхности.

Стабильность: 48 часа при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. Избегайте повторного замораживания пробы.

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. Каждый флакон калибратора рассчитан на проведение 5 калибровок. Калибровка должна быть проведена в трипликатах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Используется новый набор реактивов.
- 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).

Анализатор LIAISON®: значения концентраций калибратора содержатся в штрих-коде интеграла.

Анализатор LIAISON® XL: значения концентраций калибратора содержатся в радиочастотной метке.

11. Процедура анализа

Анализатор LIAISON®. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации с штрих-кода не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Анализатор LIAISON® XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Процедура анализа, выполняемого анализатором LIAISON, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление конъюгата и магнитных частиц.
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности сигнала.

Процедура анализа, выполняемого анализатором LIAISON XL, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционные кюветы.
2. Добавление конъюгата и магнитных частиц.
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности сигнала.

12. Контроль качества

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль производства компании DiaSorin или другой коммерческий контроль:

- а. по меньшей мере 1 раз в день перед постановкой проб пациентов
- б. каждый раз при использовании нового реагентного картриджа
- в. Каждый раз после калибровки набора
- г. каждый раз при использовании нового лота Starter Kit
- д. для того, чтобы оценить адекватность работы открытого интеграла через 2 недели в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций.

Контроли LIAISON® следует ставить в 1 повторности для контроля эффективности анализа. Контрольные значения должны лежать в пределах ожидаемого диапазона: всякий раз, когда один или оба контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, следует провести калибровку и повторить тестирование контроля. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, повторно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, тестирование следует повторить с использованием неоткрытого контрольного флакона.

Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты не должны сообщаться пациенту. Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным анализом перед их использованием. Затем следует установить соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

13. Интерпретация результатов.

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию Т4 в мкг/дл. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя. Результаты измерений калибраторов и контролей анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL в относительных световых единицах (RLU) или концентрационных единицах могут различаться, но результаты анализов проб пациентов будут одинаковыми.

13.1 Стандартизация

Тест был откалиброван с использованием эталонного метода GCMS.

13.2 Измеряемый диапазон:

LIAISON® Т4 измеряет концентрации до 40 мкг / дл.

Фактор конверсии

$1 \text{ мкг/дл} \times 12,87 = 12,87 \text{ нмоль/л}$

$1 \text{ нмоль/л} \times 0,078 = 0,078 \text{ мкг/дл}$

14. Ограничения

Реагенты следует использовать только в семействе анализаторов LIAISON®

Отдельные компоненты интеграла реагента не должны быть удалены из интеграла.

Этот комплект нельзя использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке упаковки.

Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов. Бактериальная контаминация или нагревание пробы могут повлиять на результат исследования.

Повышенные уровни общего Т4 при клиническом эутиреозе обнаруживаются при беременности, при наследственной чрезмерной секреции ТСГ или при приеме лекарств с помощью оральных контрацептивов или некоторых других лекарств (например, перфеназина, метадона, эстрогенов, опиатов, клофибрата). Повышенный таким образом уровень ТСГ компенсируется повышением общего Т4, так что физиологически значимый уровень свободного Т4 остается в пределах нормального диапазона (1).

Обнаружены пониженные уровни тироксина, связанные с клиническим эутиреозом, например, при наследственном дефиците ТСГ и в сочетании с нефротическим синдромом или декомпенсированным циррозом печени. Анаболические стероиды, салицилаты, дифенилгидантоин, тестостерон, хронические заболевания, тяжелые системные расстройства или активная акромегалия также могут привести к снижению уровня Т4 (5). Сами по себе уровни Т4 в сыворотке крови не свидетельствуют о наличии или отсутствии заболеваний щитовидной железы. Они всегда должны интерпретироваться в контексте клинической картины и других диагностических процедур. Любое терапевтическое решение также должно приниматься в каждом конкретном случае.

Не допускается обмен интегралами 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 израсходован. 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 (LIAISON® или LIAISON® XL)

15. Специфические характеристики набора

15.1 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность может определяться как способность анализатора точно обнаруживать определенное анализируемое вещество в присутствии потенциальных помех в матрице образца (например, гемолиз, липемия, билирубинемия).

15.2 Интерференция

Контролируемые изучения потенциально затрудняющих веществ или состояний показали, что на анализ не влияли концентрации билирубина < 0,01 мг/мл, гемоглобина < 1000 мг/дл или триглицериды < 30 мг/мл.

15.3 Кросс-реактивность

Перекрестная реактивность используемых тироксинных антител:

L-T2	0%
L-тироксин	0%
L-T3	<1%
D-T3	<1%
Трийодтироуксусная кислота	<1%

rT3	<15%
D-T4	120%

15.4 Интерференция с лекарственными препаратами

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

15.5 Точность на анализаторе LIAISON

Различные образцы, содержащие различные концентрации T4, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивость в пределах и между анализами).

Вариация внутри анализа			Вариация между анализами		
Среднее значение (мкг/дл)	К.В.(%)	Число повторов	Среднее значение (мкг/дл)	К.В.(%)	Число повторов
3.4	4.2	40	3.2	6.0	131
8.6	2.5	40	7.2	5.4	123
23.4	3.3	40	15.6	5.0	123

15.6 Точность на анализаторе LIAISON XL

Различные образцы, содержащие различные концентрации T4, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивость в пределах и между анализами).

Вариация внутри анализа			Вариация между анализами		
Среднее значение (мкг/дл)	К.В.(%)	Число повторов	Среднее значение (мкг/дл)	К.В.(%)	Число повторов
4.0	2.7	20	4.0	3.7	20
7.9	3.9	20	8.6	4.9	20
17.3	4.0	20	17.7	5.6	20

15.7 Достоверность

Достоверность анализа была проверена различными внутренними и внешними сравнениями, пример теста восстановления прилагается.

15.8 Тест на восстановление

Образцы с добавкой T4 тестировали для оценки восстановления анализа LIAISON® T4.

В таблице приведен пример восстановления различных количеств T4, добавленных в нативную сыворотку (3,2 мкг / дл).

Измеренное значение (мкг/дл)	Ожидаемое значение (мкг/дл)	Восстановление (%)
27.3	27.9	98
23.4	22.3	102
18.3	17.9	102
13.3	12.8	104
7.8	7.8	100

15.9 Аналитическая чувствительность

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

	Аналитическая чувствительность Предел обнаружения
LIAISON	0,1 мкг/дл