

Код ОКП 939817

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от 200 г.
№

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические
системы»

И. Е. Колосов
2008 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реактивов
«ДС-ИФА-Тиронид-Тиреоглобулин»

Тест-система иммуноферментная для количественного определения
тиреоглобулина

1. Назначение

1.1. Набор реактивов «ДС-ИФА-Тиронид-Тиреоглобулин» предназначен для количественного определения содержания тиреоглобулина (ТГ) в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА).

1.2. Тиреоглобулин – большой иодированный, гликозилированный белок с молекулярной массой 660 кДа, продуцируется клетками щитовидной железы. На его поверхности происходит синтез гормонов трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4). Тиреоглобулин – форма хранения тиреоидных гормонов во внеклеточном коллоиде щитовидной железы. У 75% здоровых людей часть ТГ из щитовидной железы поступает в кровь. В норме содержание этого белка в сыворотке крови составляет от 0 до 50 нг/мл. У населения регионов, испытывающих дефицит иода, средний уровень ТГ повышен. В связи с этим с 1994 года данный показатель используется как один из индикаторов зобной эндемии. Высокая концентрация ТГ в сыворотке крови определяется при многих заболеваниях щитовидной железы: гипертиреоз, тиреонит, дифференцированная карцинома щитовидной железы.

Оценка уровня ТГ служит основным критерием ведения и пожизненного наблюдения больных, оперированных по поводу рака щитовидной железы. После проведения тиройдэктомии происходит быстрое снижение содержания ТГ. Последующее нарастание концентрации этого маркера в сыворотке крови свидетельствует о рецидиве заболевания. Тестирование на ТГ необходимо также для правильной диагностики и лечения гипотиреоза новорожденных.

В некоторых образцах сывороток присутствуют циркулирующие антитела к ТГ. Наличие аутоантител приводит к ложноотрицательным результатам при определении ТГ. Поэтому параллельно с оценкой содержания ТГ образцы сывороток необходимо тестировать на наличие антител к нему.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах в 48 пробах (40 неизвестных проб, одна проба контрольной сыворотки, шесть калибровочных проб и одна проба для определения оптической плотности ТМБ-Субстратного раствора) при одновременном использовании всех стрипов планшета.

В случае дробного применения набора необходимо обязательное использование всех стандартных калибровочных проб, набор может быть использован в течение месяца после вскрытия реагентов набора.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип действия.

В наборе «ДС-ИФА-Тиройд-Тиреоглобулин» применен «сэндвич»-вариант твердофазного ИФА. Для реализации его использованы два моноклона антител с разной специфичностью к двум доменам молекулы тиреоглобулина: первые (немеченные) иммобилизованы на твердой фазе, вторые (меченные пероксидазой хрена) входят в состав конъюгата. В лунках, при добавлении исследуемого образца и конъюгата анти-ТГ-пероксидаза, во время инкубации одновременно происходит иммобилизация ТГ, содержащегося в исследуемом образце, и связывание его с конъюгатом.

Количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству тиреоглобулина в исследуемом образце.

Во время инкубации с ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации связанного конъюгата анти-ТГ-пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ТГ в исследуемых пробах.

2.2. Состав набора:

- иммуносорбент – планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к ТГ, маркирован «Иммуносорбент» — 1 шт;

- конъюгат - моноклональные антитела к ТГ человека, меченые пероксидазой хрена; прозрачная или опалесцирующая розового цвета жидкость; маркирован «Конъюгат» — 1 фл. (12,0 мл);

- калибровочные пробы, аттестованные по сертифицированному референсному материалу ТГ CRM 457 BCR (Брюссель), содержащие известное количество ТГ; прозрачные или слегка опалесцирующие светло-желтого цвета жидкости; калибровочный материал может отличаться от заявленного по значениям концентрации ТГ (нг/мл), значения концентраций ТГ в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов и в аналитическом паспорте качества, маркированы:

«Калибратор 0» (0 нг/мл) - 1 фл. (2,0 мл);

«Калибратор 1» (3 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);

«Калибратор 2» (10 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);

«Калибратор 3» (30 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);

«Калибратор 4» (100 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл);

«Калибратор 5» (300 нг/мл) - 1 фл. (0,5 мл).

- контрольная сыворотка с известным содержанием ТГ; прозрачная или слегка опалесцирующая светло-желтого цвета жидкость; значение

концентрации ТГ в сыворотке указано на этикетке флакона и в аналитическом паспорте качества, маркирована «Контрольная сыворотка» - 1 фл. (0,5 мл);

- промывочный раствор, концентрат; прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании; маркирован «ПР (концентрат х 25)» - 1 фл. (50,0 мл);

- ТМБ-Субстратный раствор; прозрачная бесцветная жидкость; маркирован «ТМБ-Субстратный раствор» - 1 фл. (12,0 мл);

- серная кислота в концентрации 0,2 моль/л; прозрачная бесцветная жидкость; маркирована «Стоп-реагент/0,2М» - 1 фл. (15,0 мл);

- бланк для построения калибровочной кривой – 1 шт;

- инструкция по применению – 1 шт.

Дополнительно в комплект поставки могут быть включены:

-крышка к полистироловым 96-луночным планшетами;

-одноразовые наконечники;

-пластиковая ванночка для жидких реагентов;

-пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

3.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая концентрация тиреоглобулина в сыворотке крови составляет 2,0 нг/мл.

3.2. Специфичность. Для определения кросс-реактивности в образец сыворотки с известной концентрацией ТГ добавляли кросс-реагенты, указанные в таблице 1.

Таблица №1

Кросс-реагент	Кросс-реактивность, %
тиреоглобулин	100
трийодтиронин	0.007
тироксин	0.248

3.3. Коэффициент вариации результатов определения уровня

тиреоглобулина в одном и том же образце не превышает 8%.

3.4. **Линейность.** Зависимость концентрации ТГ имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №1–№5. Значение «линейности» должно находиться в пределах от 90 до 110%.

3.5. **Точность.** Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» ТГ – соответствие измеренной концентрации ТГ предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов калибровочной пробы №4 и контрольной сыворотки. Процент открытия составляет от 90 до 110%.

3.6. **Клиническая проверка.** Концентрацию ТГ измеряли в сыворотке крови, взятой у 350 здоровых людей в возрасте от 21 до 40 лет. Диапазон измеренных концентраций составил от 1,5 до 43,7 нг/мл.

3.7. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентраций ТГ, соответствующие нормальным значениям для конкретной территории.

4. Меры предосторожности

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2а.

4.2. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.3. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. Стоп-реагент представляет собой 0,2 М раствор серной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания раствора стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.5. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или

пластиковые перчатки, т.к. исследуемые образцы сывороток крови являются потенциально инфицированным материалом, в котором длительное время могут сохраняться возбудители ВИЧ, парентеральных вирусных гепатитов и других инфекционных заболеваний.

4.6. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

4.7. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

5. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм;
- термостатируемый шейкер, позволяющий производить встряхивание со скоростью от 500 до 800 об/мин при температуре $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$;
- устройство для промывания планшетов (вошер);
- дозаторы пипеточные полуавтоматические одноканальные с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 40–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл с наконечниками;
- дозатор пипеточный полуавтоматический восьмиканальный, позволяющий отбирать объемы жидкости до 300 мкл, с наконечниками;
- цилиндр мерный (200 мл, 500 мл);
- стакан стеклянный (500 мл);
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые образцы сывороток крови человека

Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые

образцы термоинаktivированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. **Недопустимо использование образцов с добавлением азида натрия в качестве консерванта!** Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником! Отобранные образцы хранить при температуре от 2 до 8 °C не более 3-х суток. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °C (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Нельзя использовать образцы с бактериальным ростом, выраженным гемолизом и гиперлипидемией. Образцы сыворотки крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин в течение 15 мин при температуре от 4 до 8 °C.

7. Подготовка реагентов для анализа

7.1. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов, а также использовать реагенты по истечении срока их годности!

Перед использованием все реагенты набора выдержать 30 мин при комнатной температуре (от 18 до 24 °C).

7.2. Иммуносорбент. **Внимание:** во избежание конденсации влаги внутри лунок необходимо выдержать иммуносорбент при комнатной температуре (от 18 до 24 °C) в закрытом пакете не менее 30 минут!

Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество стрипов, вставить стрипы в рамку.

7.3. ПР - рабочий промывочный раствор. Содержимое флакона с концентратом ПР тщательно перемешать. Для приготовления рабочего ПР необходимое количество концентрата промывочного раствора отобрать в отдельную ёмкость и добавить соответствующее количество воды

дистиллированной (см. табл. №2). Полученный раствор тщательно перемешать.

7.4. Конъюгат – готов к применению.

7.5. Калибровочные пробы - готовы к применению.

7.6. Контрольная сыворотка, готова к применению.

7.7. ТМБ-Субстратный раствор - готов к применению.

7.8. Стоп-реагент – готов к применению.

Таблица № 2

**Расход реагентов набора в зависимости от количества
используемых стрипов**

	Рабочий промывочный раствор		Конъюгат (мл)	ТМБ- Субстратный раствор (мл)
	ПР (конц x25) (мл)	Вода дистиллированная (мл)		
2	5	120	2,0	2,0
3	10	240	3,0	3,0
4	15	360	4,0	4,0
5	20	480	5,0	5,0
6	20	480	6,0	6,0
7	20	480	7,0	7,0
8	20	480	8,0	8,0
9	20	480	9,0	9,0
10	20	480	10,0	10,0
11	20	480	11,0	11,0
12	20	480	12,0	12,0

8. Проведение анализа.

8.1. Калибровочные пробы и контрольную сыворотку рекомендуется вносить по следующей схеме:

в лунки иммуносорбента А-1, А-2 дозатором пипеточным внести по 50 мкл «Калибратора 0», в лунки В-1, В-2 - по 50 мкл «Калибратора 1», в лунки С-1, С-2 - по 50 мкл «Калибратора 2», в лунки D-1, D-2 – по 50 мкл «Калибратора 3», в лунки Е-1, Е-2 - по 50 мкл «Калибратора 4», в лунки F-1, F-2 - по 50 мкл «Калибратора 5». В лунки G1, G2 – по 50 мкл контрольной сыворотки. Лунки Н1 и Н2 оставить для измерения оптической плотности ТМБ-Субстратного раствора.

В остальные лунки в двух повторах внести по 50 мкл исследуемых образцов сывороток крови.

Внимание! Время внесения образцов не должно превышать 10 мин!

8.2. Во все лунки, кроме H1 и H2, внести по 100 мкл конъюгата, стрипы планшета закрыть крышкой и инкубировать 60 минут при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ на шейкере при встряхивании со скоростью от 500 до 800 об/мин.

8.3. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить с помощью вошера (или многоканальной пипетки) в ёмкость для сбора инфицированного материала, иммуносорбент промыть 5 раз рабочим ПР, заливая его до краев лунок (не менее 300 мкл в лунку) и удаляя промывочный раствор с помощью вошера (или многоканальной пипетки) в ёмкость для сбора инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. Не допускать остатка жидкости в лунках планшета.

8.4. Во все лунки отмытого планшета внести по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора и выдержать в течение от 20 до 30 мин в защищённом от света месте при температуре от 18 до 24 $^\circ\text{C}$.

8.5. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реагента, встряхнуть стрипы на шейкере в течение от 10 до 15 секунд и провести учет результатов.

9. Регистрация результатов

Регистрацию результатов проводить спектрофотометрически при длине волны: 450 нм с настройкой прибора по «воздуху».

Желательно использовать программу спектрофотометра, позволяющую вычитать величину оптической плотности (ОП) в лунках с «Калибратором 0» (A1-A2) из значений ОП всех остальных лунок, если фотометр не позволяет

вычитать величину ОП лунок А1-А2, то для расчетов концентраций следует использовать величину разности ОП образца – ОПА1-А2, где ОП образца – среднее значение ОП в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы, ОПА1-А2 – среднее значение ОП лунок А1-А2.

10. Учет результатов

Реакцию следует учитывать, если среднее значение ОП в лунках с контролем субстрата (Н1 и Н2) - не более 0,1.

Необходимо построить калибровочный график по средним величинам ОП «Калибратора 0»; «Калибратора 1»; «Калибратора 2»; «Калибратора 3»; «Калибратора 4»; «Калибратора 5». На бланке для построения калибровочной кривой по оси абсцисс Х откладывают соответствующие значения концентрации ТГ, выраженной в нг/мл, по оси ординат Y откладывают средние значения ОП калибровочных проб. По полученным точкам строят калибровочную кривую.

Контрольная сыворотка служит для проверки точности и достоверности результатов. Полученные величины концентраций ТГ в образцах считать достоверными, если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации ТГ в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

11. Условия хранения и эксплуатации набора

11.1. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности. Срок годности набора – 13 месяцев.

11.2. Транспортирование набора реагентов проводить при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 10 суток.

11.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

- Иммуносорбент – пакет с неиспользованными стрипами и силикагелем тщательно герметизировать. После первого вскрытия пакета иммуносорбент стабилен в течение 1 месяца при хранении при температуре от 2 до 8 °С.

- ПР - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ПР (концентрат х 25) хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

- Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить не более 3-х суток при температуре от 2 до 8 °С.

- Конъюгат – после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным конъюгат хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении месяца при температуре от 2 до 8 °С.

- Калибровочные пробы - после вскрытия флакона оставшиеся неиспользованными калибровочные пробы хранить во флаконах, плотно закрытых винтовыми крышками на протяжении месяца при температуре от 2 до 8 °С.

- Контрольная сыворотка - после вскрытия флаконов оставшуюся неиспользованной контрольную сыворотку хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении месяца при температуре от 2 до 8 °С.

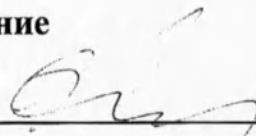
- ТМБ-Субстратный раствор - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ТМБ-Субстратный раствор хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении месяца при температуре от 2 до 8 °С.

- Стоп-реагент – после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным Стоп-реагент хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

11.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

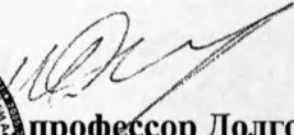
Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12

Директор ООО
«Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»
по производству

 Г. А. Полянская

«СОГЛАСОВАНО»
Зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГОУ ДПО
«РМАПО Росздрава»



 профессор Долгов В.В.
сентябрь 2008 г.

Подпись В.В. Долгове
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: М.В. 25.09.08



Исследование
протекания
12 (двухматрица)
сравнения
Клини

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 20__ г.
№ _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические системы»


« _____ » _____ 2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«ДС-ИФА-Тиронд-Тиреоглобулин»
Тест-система иммуноферментная для количественного определения
тиреоглобулина

1. Назначение

1.1. Набор реагентов «ДС-ИФА-Тиронд-Тиреоглобулин» предназначен для количественного определения содержания тиреоглобулина (ТГ) в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА).

1.2. Тиреоглобулин – большой йодированный, гликозилированный белок с молекулярной массой 660 кДа, продуцируется клетками щитовидной железы. На его поверхности происходит синтез гормонов трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4). Тиреоглобулин – форма хранения тиреоидных гормонов во внеклеточном коллоиде щитовидной железы. У 75% здоровых людей часть ТГ из щитовидной железы поступает в кровь. У населения регионов, испытывающих дефицит йода, средний уровень ТГ повышен. В связи с этим с 1994 года данный показатель используется как один из индикаторов зобной эпидемии. Высокая концентрация ТГ в сыворотке крови определяется при многих заболеваниях щитовидной железы: гипертиреоз, тиреоидит, дифференцированная карцинома щитовидной железы.

Оценка уровня ТГ служит основным критерием ведения и пожизненного наблюдения больных, оперированных по поводу рака щитовидной железы. После проведения тирондэктомии происходит быстрое снижение содержания ТГ. Последующее нарастание концентрации этого маркера в сыворотке крови свидетельствует о рецидиве заболевания. Тестирование на ТГ необходимо также для правильной диагностики и лечения гипотиреоза новорожденных.

В некоторых образцах сывороток присутствуют циркулирующие антитела к ТГ. Наличие аутоантител приводит к ложноотрицательным результатам при определении ТГ. Поэтому параллельно с оценкой содержания ТГ образцы сывороток необходимо тестировать на наличие антител к нему.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 неизвестных проб, одна проба контрольной сыворотки, шесть стандартных калибровочных проб и одна проба для определения оптической плотности ТМБ-Субстратного раствора при одновременном использовании всех стрипов планшета (всего 96 определений).

В случае дробного применения набора необходимо обязательное использование всех стандартных калибровочных проб.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип действия.

В наборе «ДС-ИФА-Тиронд-Тиреоглобулин» применен «сэндвич»-вариант твердофазного ИФА. Для реализации его использованы два моноклональных антитела с разной специфичностью к двум доменам молекулы тиреоглобулина: первые антитела иммобилизованы на твердой фазе, вторые (меченные пероксидазой хрена) входят в состав конъюгата. В лунках, при добавлении исследуемого образца и конъюгата анти-ТГ-пероксидаза, во время инкубации одновременно происходит иммобилизация ТГ, содержащегося в исследуемом образце, и связывание его с конъюгатом. Количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству тиреоглобулина в исследуемом образце.

Во время инкубации с ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации связанного конъюгата анти-ТГ-пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ТГ в исследуемых пробах.

2.2. Состав набора реагентов «ДС-ИФА-Тиронд-Тиреоглобулин»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент - планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый, разборность до 1 лунки) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к ТГ.	1 шт.
Конъюгат - моноклональные антитела к ТГ человека, меченные пероксидазой хрена. Прозрачная или опалесцирующая розового цвета жидкость. В качестве консервантов содержит: 0,1% проклин 300, 0,004% гентамицина сульфат.	1 флакон 12,0 мл
Калибратор 0, Калибратор 1, Калибратор 2, Калибратор 3, Калибратор 4, Калибратор 5 – стандартные калибровочные пробы, аттестованные по сертифицированному референсному материалу ТГ CRM 457 BCR (Брюссель), содержащие известное количество ТГ. Прозрачные или слегка опалесцирующие светло-желтого цвета жидкости. Значения концентраций ТГ в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов и в аналитическом паспорте качества. В качестве консервантов содержат: 0,1% проклин 300, 0,004% гентамицина сульфат, 0,1% фенол.	6 флаконов по 0,5 мл (Калибратор 0 – 2,0 мл)
Контрольная сыворотка - сыворотка с известным содержанием ТГ. Прозрачная или слегка опалесцирующая светло-желтого цвета жидкость. Значение концентрации ТГ в сыворотке указано на этикетке флакона и в аналитическом паспорте качества. В качестве консервантов содержит: 0,1% проклин 300, 0,004% гентамицина сульфат, 0,1% фенол.	1 флакон 0,5 мл
ПР (концентрат х 25) – промывочный раствор, концентрат. Прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.	1 флакон 50,0 мл
ТМБ-Субстратный раствор - прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 14,0 мл
Стоп-реагент/0,2М - серная кислота в концентрации 0,2 моль/л. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл
Бланк для построения калибровочной кривой	1 шт.
Инструкция по применению	1 шт.

Дополнительно в комплект поставки могут быть включены:

- крышка к полистироловым 96-луночным планшетами или защитная пленка для ИФА планшетов;
- одноразовые наконечники;

- пластиковые ванночки для жидких реагентов;
- пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом или полиэтиленовый пакет с замком.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

3.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая концентрация тиреоглобулина в сыворотке крови составляет 1,5 нг/мл.

3.2. Специфичность. Для определения кросс-реактивности в образец сыворотки с известной концентрацией ТГ добавляли кросс-реагенты, указанные в таблице 2.

Таблица 2

Кросс-реагент	Кросс-реактивность, %
тиреоглобулин	100
трийодтиронин	0.007
тироксин	0.248

3.3. Коэффициент вариации результатов определения уровня тиреоглобулина в одном и том же образце не превышает 8%.

3.4. Линейность. Зависимость концентрации ТГ имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №1–№5. Значение «линейности» должно находиться в пределах от 90 до 110%.

3.5. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» ТГ – соответствие измеренной концентрации ТГ, предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов калибровочной пробы №4 и контрольной сыворотки. Процент открытия составляет от 90 до 110%.

3.6. Клиническая проверка. Концентрацию ТГ измеряли в сыворотке крови, взятой у 350 здоровых людей в возрасте от 21 до 40 лет. Измеренная концентрация не превышала 67,8 нг/мл.

3.7. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентраций ТГ, соответствующие нормальным значениям для конкретной территории.

4. Меры предосторожности

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

4.1. Постановку ИФА следует проводить в помещении с комнатной температурой от 18 до 24 °С.

4.2. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:

- неспецифических компонентов (ПР (концентрат х 25), ТМБ-Субстратный раствор, Стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах для исследования гормонов и онкомаркеров, производства ООО «НПО «Диагностические системы».

4.3. Нельзя использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.

4.4. Растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.

4.5. Нельзя проводить ферментную реакцию в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на активность конъюгатов.

4.6. Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.

4.7. Ферментная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгатов или субстрата.

4.8. Необходимо использовать чистый наконечник для каждого образца или реагента.

4.9. Промывка лунок - важный этап проведения анализа: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполняются

раствором. Не следует допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.

4.10. Нельзя использовать одну и ту же ванночку для внесения конъюгата и ТМБ-Субстратного раствора.

4.11. Необходимо использовать только валидированные дозаторы и оборудование.

4.12. Нельзя изменять процедуру проведения анализа.

4.13. Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

5. Инструкция по безопасности

5.1. Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.

5.2. Сыворотки крови человека, используемые при приготовлении Контрольной сыворотки, были протестированы и определены неактивными в отношении антигена вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С, антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1.

5.3. В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.

5.4. Нельзя пипетировать ртом.

5.5. При работе с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

5.6. При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами, необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами.

5.7. При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спецодежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

5.8. Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы. При распыливании немедленно дезинфицировать поверхность 3 % раствором хлорамина Б.

5.9. Необходимо избегать контакта ТМБ-Субстратного раствора, стоп-реагента с кожей и слизистыми.

5.10. После проведения ферментной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства или в 3 % раствор хлорамина Б. Длительность дезинфекции – не менее 1 ч. Допустимо применение другого разрешенного к применению дезинфицирующего средства. Твердые отходы также следует обезвреживать автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа). Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.



5.11.  xi Некоторые реагенты содержат 0,1% проклин 300. Проклин 300 0,1% - раздражающее вещество. Может вызвать сенсibilизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промыть область контакта большим количеством мыла и воды.

6. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм;
- термостатируемый шейкер, позволяющий производить встряхивание со скоростью от 500 до 800 об/мин при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$;
- устройство для промывания планшетов (вошер);
- дозаторы пипеточные полуавтоматические одноканальные с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 40–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл с наконечниками;
- дозатор пипеточный полуавтоматический восьмиканальный, позволяющий отбирать объемы жидкости до 300 мкл, с наконечниками;
- цилиндр мерный (200 мл, 500 мл);
- стакан стеклянный (500 мл);
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

7. Анализируемые образцы сывороток крови человека

Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинаktivированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. Недопустимо использование образцов с добавлением азида натрия в качестве консерванта! Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником! Отобранные образцы хранить при температуре от 2 до 8 °C не более 3-х суток. Более длительное хранение допустимо при температуре не выше минус 20 °C (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Нельзя использовать образцы с бактериальным ростом, выраженным гемолизом и гиперлипидемией. Образцы сыворотки крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин в течение 15 мин при температуре от 4 до 8 °C.

8. Подготовка реагентов для анализа

Перед использованием все реагенты набора выдержать 30 мин при комнатной температуре.

8.1. Иммуносорбент. Внимание: во избежание конденсации влаги внутри лунок необходимо выдержать иммуносорбент при комнатной температуре в закрытом пакете не менее 30 минут!

Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и необходимое количество стрипов, вставить стрипы в рамку.

Пакет с неиспользованными стрипами тщательно герметизировать с помощью скрепки для фольгированного пакета (не удаляя осушитель!). Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета. Или поместить вскрытый фольгированный пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком.

8.2. ПР - рабочий промывочный раствор. Содержимое флакона с концентратом ПР тщательно перемешать. Для приготовления рабочего ПР необходимое количество концентрата промывочного раствора развести в 25 раз водой дистиллированной (например, к 10 мл концентрата ПР добавить 240 мл воды). Полученный раствор тщательно перемешать.

8.3. Конъюгат – готов к применению.

8.4. Стандартные калибровочные пробы - готовы к применению.

8.5. Контрольная сыворотка - готова к применению.

8.6. ТМБ-Субстратный раствор - готов к применению.

8.7. Стоп-реагент – готов к применению.

9. Проведение анализа

9.1. Стандартные калибровочные пробы и контрольную сыворотку вносить по 50 мкл в двух повторах. Рекомендуется оставить 2 лунки для измерения ОП ТМБ-Субстратного раствора.

В остальные лунки внести по 50 мкл исследуемых образцов сывороток крови в дубликатах.

Внимание! Время внесения образцов не должно превышать 10 минут!

9.2. Во все лунки, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора, внести по 100 мкл конъюгата, стрипы планшета закрыть крышкой или защитной пленкой и инкубировать 60 минут при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ на шейкере при встряхивании со скоростью от 500 до 800 об/мин.

9.3. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить с помощью вошера (или многоканальной пипетки) в ёмкость для сбора инфицированного материала, иммуносорбент промыть 5 раз рабочим ПР, заливая его до краев лунок (не менее 300 мкл в лунку) и удаляя промывочный раствор с помощью вошера (или многоканальной пипетки) в ёмкость для сбора инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге. Не допускать остатка жидкости в лунках планшета.

9.4. Во все лунки отмытого планшета немедленно внести по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора и выдержать от 20 до 30 мин в темноте при комнатной температуре.

9.5. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реактанта, встряхнуть стрипы на шейкере в течение 5-10 секунд и провести учет результатов. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 мин.

9.6. **Спектрофотометрический контроль внесения сывороток и реагентов при постановке тест-системы «ДС-ИФА-Тиронд-Тиреоглобулин» на автоматических ИФА-анализаторах.** Контроль внесения конъюгата рекомендуется проводить при длинах волн 540 (550) нм, критерий: ОП > 0,500.

10. Регистрация результатов

Регистрацию результатов проводить спектрофотометрически при длине волны 450 нм.

11. Учет результатов

Реакцию следует учитывать, если среднее значение ОП в лунках с контролем ТМБ-Субстратного раствора - не более 0,1.

Необходимо построить калибровочный график по средним величинам ОП «Калибратора 0»; «Калибратора 1»; «Калибратора 2»; «Калибратора 3»; «Калибратора 4»; «Калибратора 5». На бланке для построения калибровочной кривой по оси абсцисс X откладывают соответствующие значения концентрации ТГ, выраженной в нг/мл, по оси ординат Y откладывают средние значения ОП стандартных калибровочных проб. По полученным точкам строят калибровочную кривую.

Контрольная сыворотка служит для проверки точности и достоверности результатов. Полученные величины концентраций ТГ в образцах считать достоверными, если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации ТГ в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

12. Ограничения теста

12.1. Все реагенты набора предназначены для определения тиреоглобулина (ТГ) в сыворотке крови человека. Набор не предназначен для определения тиреоглобулина (ТГ) в слюне, плазме и других образцах человеческого или животного происхождения.

12.2. Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры теста могут повлиять на результаты.

12.3. Для разведения образцов сывороток с высоким содержанием Тиреоглобулина следует использовать только «Калибратор 0». Применение других реагентов может привести к ложным результатам.

12.4. Заключение о клиническом диагнозе не может быть основано только на результатах данного теста. Любой лабораторный результат является только частью общей клинической картины пациента.

12.5. Набор не предназначен для тестирования образцов сывороток крови новорожденных.

13. Условия хранения и эксплуатации набора

13.1. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности. Срок годности набора – 18 месяцев.

13.2. Транспортирование набора реагентов проводить при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 10 суток.

13.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

- Иммуносорбент – пакет с неиспользованными стрипами и силикагелем тщательно герметизировать. После первого вскрытия пакета иммуносорбент стабилен на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

- ПР - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ПР (концентрат х 25) хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

- Рабочий промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут. при комнатной температуре или 28 сут. при температуре от 2 до 8 °С.

- Конъюгат – после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным конъюгат хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении двух месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

- Стандартные калибровочные пробы - после вскрытия флакона оставшиеся неиспользованными калибровочные пробы хранить во флаконах, плотно закрытых винтовыми крышками, на протяжении двух месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

- Контрольная сыворотка - после вскрытия флаконов оставшуюся неиспользованной контрольную сыворотку хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении двух месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

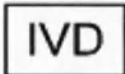
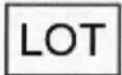
- ТМБ-Субстратный раствор - после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным ТМБ-Субстратный раствор хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении двух месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

- Стоп-реагент – после вскрытия флакона оставшийся неиспользованным Стоп-реагент хранить во флаконе, плотно закрытом винтовой крышкой, на протяжении срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

13.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12.

14. Объяснение символов

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
	Каталожный номер
	Количество определений
	Номер партии (серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Смотрите инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

Директор по производству
ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»

СОГЛАСОВАНО
Зав.кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГБОУ ДПО РМАПО
Минздравсоцразвития России
д.м.н, профессор



В.К. Пименов

Подпись _____
удостоверяю:
Специалист по кадрам РМАПО
Подпись _____
" ____ " ____ 20__ года

В.В. Долгов

23.05.2012

