

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

Т.Ю.Гашенко
2022г.



ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«Тест-система иммуноферментная для количественного определения свободного
трийодтиронина в сыворотке (плазме) крови человека»
"ИФА-Трийодтиронин-свободный"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения свободного трийодтиронина в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-Трийодтиронин-свободный" предназначен для количественного определения свободного трийодтиронина (св. Т3) в сыворотке или плазме (с цитратом натрия, гепарином, ЭДТА) крови человека с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Функциональное назначение

Скрининг и диагностика функционального состояния щитовидной железы (при первичном гипотиреозе, при остром гипертиреозе, его рецидиве, дифференциальной диагностике гипертиреоза), контроль эффективности лечения гипертиреоза.

Применение изделия не имеет популяционных и демографических аспектов.

Для однократного применения.

Для клинической лабораторной диагностики in vitro.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Показания

Изделие предназначено для обследования пациентов с целью определения их гормонального статуса в отношении Т3 свободного.

Противопоказания

При использовании специально обученным персоналом и с учетом применения по назначению противопоказания не выявлены.

1. Истекший срок годности теста.
2. Нарушена упаковка изделия.
3. Ненадлежащие условия хранения и транспортирования.
4. Другие противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

Описание целевого анализа, сведения о его научной обоснованности

Тироксин (Т4) и 3,5,3'-трийодтиронин (Т3) - гормоны, вырабатываемые щитовидной железой и циркулирующие в крови как в свободной, так и в связанной форме – в основном, с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ). Гормональной активностью обладают только свободные Т3 и Т4. Концентрация свободных Т3 и Т4 составляет 0.03% от общего содержания для Т4 и 0.3% - для Т3.

Концентрация Т3 ниже, чем Т4, однако его метаболическая активность примерно в 3 раза выше. Около 80% сывороточного Т3 образуется за счет дейодирования Т4 в периферических тканях, и

но небольшое его количество образуется прямым синтезом в щитовидной железе. Поэтому при гипотиреозе уровень Т3 может длительное время находиться на нижнем пределе нормы, так как его потеря может компенсироваться повышенным превращением Т4 в Т3. Определение содержания общего и свободного Т3 проводят при начальной стадии гипертиреоза, при рецидиве гипертиреоза, при дифференциальной диагностике гипертиреоза, при симптоматическом повышении уровня Т3, при остром гипертиреозе после подавляющей терапии L-тироксинном.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Наименование компонента	Характеристика компонента	
Иммуносорбент	Поликлональные антитела к Т3, сорбированные в лунках стрипов 96-луночного разборного полистиролового планшета для иммунологических реакций с плоским дном	1 планшет
	допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)	
Контрольный положительный образец (K^+)	Инактивированный; жидкая сыворотка крови человека, содержащая свободный трийодтиронин в известной концентрации (диапазон концентраций указывается на этикетке флакона для каждой серии набора); прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость	1 фл. (0,75 мл)
Калибровочные пробы (КП ₁₋₆)	Инактивированные пробы, содержащие известную концентрацию свободного трийодтиронина (ориентировочные значения концентрации св.Т3 в КП ₁ – 0 пмоль/л, в КП ₂ – 2,5 пмоль/л; в КП ₃ – 5 пмоль/л; в КП ₄ – 10 пмоль/л в КП ₅ – 20 пмоль/л; в КП ₆ – 40 пмоль/л; КП ₁ – прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость; КП ₂ -КП ₆ – прозрачные или слегка опалесцирующие жидкости синего цвета	(КП ₁₋₆) - 6 фл. по (0,75 мл)
Конъюгат	Трийодтиронин, меченный пероксидазой хрена; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета	1 фл. (14 мл)
26-кратный концентрат отмывающего раствора [ОР(х26)]	Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость.	1 фл. (22 мл)
Раствор индикаторный (РИ)	Субстратный раствор, содержащий тетраметилбензидин и перекись водорода; прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (14 мл)
Стоп-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (15 мл)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.
Вспомогательные пластиковые (ПВХ) емкости размером 110х50х19,0		4 шт.
Клейкая пленка для планшета		4 шт.

Примечания. 1. Набор включает все реагенты, необходимые для постановки ИФА, кроме очищенной (дистиллированной или деионизированной) воды.

2. [ОР(х26)], РИ, стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты.

3. Не допускается использование неспецифических реагентов разных серий.

4. K^+ не содержит HBsAg, антитела к ВГС, *Treponema pallidum*, ВИЧ-1,2.

5. В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).

6. В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.

Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Базовый вариант комплектации позволяет одномоментное дублированное исследование 48 образцов, включая калибровочные и контрольные (на каждый образец используется 2 лунки, при этом на калибровочные и контрольные образцы используется 14 лунок). Предусмотрена возможность проведения раздельных исследований с использованием необходимого количества стрипов:

Число стрипов	2	4	6	8	10	12
Число иссл. обр.	1	2-9	10-17	18-25	26-33	34-41

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

В основе - метод конкурентного ИФА. На поверхность лунок полистиролового планшета нанесены поликлональные антитела к ТЗ, за которые в ходе реакции конкурируют сывороточный свободный ТЗ, содержащийся в исследуемых образцах, и ТЗ, меченный пероксидазой хрена (конъюгат). После удаления (отмывки) не связавшихся с антителами реагентов и добавления индикаторного раствора реакционная смесь в лунках планшета окрашивается. Интенсивность окрашивания обратно пропорциональна количеству сывороточного свободного трийодтиронина в исследуемых пробах.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка или плазма (с цитратом натрия, гепарином, ЭДТА) крови человека объемом не менее 50 мкл.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Сбор образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой методом венепункции без антикоагулянтов. Для получения плазмы кровь собирают в пробирки с добавлением антикоагулянтов: солей этилендиаминтетрауксусной кислоты, цитрата натрия, гепарина.

Процедуры первичной обработки образцов биоматериалов по месту их взятия зависят от общей организации лабораторного обеспечения в данном учреждении. Если процедурные кабинеты расположены в том же здании, что и лаборатория, то контейнеры с кодированными образцами следует как можно скорее доставлять в лабораторию, где и будут осуществляться все дальнейшие действия.

При необходимости более длительного транспортирования в лабораторию образцы свернувшейся крови (обычно свертывание происходит в течение 30 мин), предназначенные для получения сыворотки, должны быть отцентрифугированы на месте не позднее, чем через 1 час после взятия образца. Кровь для получения сыворотки или плазмы центрифугируют в течение 10 - 15 мин при

Все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними, транспортировании должны учитываться требования СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Хранение образцов

Образцы сыворотки (плазмы) крови до исследования можно хранить не более 5 сут при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 5 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Специфичность

Перекрестная реакция антител к трийодтиронину с другими анализатами приведена в таблице

аналит	Перекрестная реакция (%)
L-T3	100
D-T3	100
L-тироксин	0,01
D-тироксин	0,04

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения концентрации свободного трийодтиронина в одном и том же образце сыворотки крови не превышает 8%.

Линейность

Зависимость концентрации от разведения для свободного трийодтиронина в образцах сыворотки крови, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 2,5–40 пмоль/л, отклонение не превышает 10%.

Точность

Процент «открытия» составляет 90-110%.

Чувствительность

Минимальная достоверно определяемая концентрация свободного трийодтиронина в сыворотке крови не превышает 0,5 пмоль/л.

При исследовании образцов с содержанием гемоглобина 200 г/л, триглицеридов 5,0 мг/дл; билирубина –7,0 мг/дл; интерференция не наблюдалась.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 г), ГОСТ 31508.

Все компоненты набора, кроме стоп-реагента, в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть проточной водой.

Набор биологически безопасен, однако с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом

Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил "Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

Набор реагентов, в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий") относится к классу А - отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными и классу Б (эпидемиологически опасные отходы) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы, материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)

- Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одно- и многоканальные переменного объема) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми;
- Мерный цилиндр вместимостью 1000 мл для приготовления отмывающего раствора.
- Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета;
- Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм;
- Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин;
- Термостат на 37 °С;
- Холодильник бытовой;
- Фильтровальная бумага;
- Вода очищенная (дистиллированная или деионизированная);
- 70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез. растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 3.3686-21, кроме хлорсодержащих.

Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все реагенты перед проведением анализа не менее 30 мин при температуре от 18 до 25 °С.

Приготовление рабочего отмывающего раствора (ОР)

Готовить не позднее, чем за 15 мин до проведения анализа.

В зависимости от числа используемых стрипов отобрать необходимый объем концентрата ОР(х26) и довести его водой очищенной до объема, указанного в таблице:

Число стрипов	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ОР(х26), мл	3	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
Вода очищенная, мл	75	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550

Готовый рабочий отмывающий раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 45 сут, при температуре от 18 до 25 °С – не более 15 сут.

Приготовление остальных реагентов

Иммуносорбент, К⁺, КП (1-6), конъюгат, РИ, стоп-реагент – готовы к применению.

Проведение ИФА ("ручная" постановка)

Внимание! Соблюдение указанных ниже температуры и времени инкубации планшетов на каждой стадии постановки крайне важно для получения достоверных результатов.

1. Извлечь из пакета планшет, вскрыв выше замка «zip-lock», и установить на рамку необходимое для проведения ИФА количество стрипов. Неиспользованные стрипы немедленно поместить обратно в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть «zip-lock» и поместить в холодильник.

Хранение вскрытого иммуносорбента возможно при температуре 2-8 °С до истечения срока годности набора.

2. Внести в лунки планшета (как можно ближе ко дну каждой лунки) по 25 мкл контрольных проб и исследуемых образцов в соответствии со схемой их внесения и добавить в каждую лунку по 100 мкл конъюгата.

Внимание! Максимальная воспроизводимость результатов обеспечивается соблюдением одного и того же порядка внесения реагентов. Общее время внесения образцов и конъюгата не должно превышать 15 мин. В противном случае калибраторы следует вносить в отведенные для них лунки после пипетирования первой половины проб. Если для анализа используется больше одного планшета, калибровку следует выполнять для каждого планшета.

Рекомендуемая схема внесения образцов при использовании 12 стрипов

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	КП1	КП1	ИО2	ИО2	ИО10	ИО10	ИО18	ИО18	ИО26	ИО26	ИО34	ИО34
B	КП2	КП2	ИО3	ИО3	ИО11	ИО11	ИО19	ИО19	ИО27	ИО27	ИО35	ИО35
C	КП3	КП3	ИО4	ИО4	ИО12	ИО12	ИО20	ИО20	ИО28	ИО28	ИО36	ИО36
D	КП4	КП4	ИО5	ИО5	ИО13	ИО13	ИО21	ИО21	ИО29	ИО29	ИО37	ИО37
E	КП5	КП5	ИО6	ИО6	ИО14	ИО14	ИО22	ИО22	ИО30	ИО30	ИО38	ИО38
F	КП6	КП6	ИО7	ИО7	ИО15	ИО15	ИО23	ИО23	ИО31	ИО31	ИО39	ИО39
G	К+	К+	ИО8	ИО8	ИО16	ИО16	ИО24	ИО24	ИО32	ИО32	ИО40	ИО40
H	ИО1	ИО1	ИО9	ИО9	ИО17	ИО17	ИО25	ИО25	ИО33	ИО33	ИО41	ИО41

3. Планшет заклеить клейкой пленкой. Инкубировать 60 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок. Стрипы промыть 5 раз ОР, внося в лунки 350-370 мкл раствора. При наличии промывателя, позволяющего производить промывку в режиме "Overflow", использовать именно этот режим. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.

5. Во все лунки внести по 100 мкл раствора индикаторного, немедленно поместить планшет в защищенное от света место при температуре 18-25°С и выдержать в течение 10-20 мин (в зависимости от степени развития синего окрашивания).

8. Во все лунки (в той же последовательности, с которой вносился субстратно-индикаторный раствор) внести по 100 мкл стоп-реагента, осторожно (постукиванием по планшету) перемешать содержимое лунок и не более чем через 15 мин приступить к учету результатов.

РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны – 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитывать при следующих условиях:

ОП_{КП1} > 1,0,

ОП_{КП6} > 0,05.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Построить калибровочную кривую по точкам, ординатами которых являются полученные в ИФА значения ОП КП, а абсциссами – десятичный логарифм концентрации свободного ТЗ в этих пробах, указанные на этикетках флаконов, и определить по данной кривой концентрации свободного ТЗ в К⁺ и исследованных образцах.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации. Приравняйте концентрацию калибровочной пробы 0 пмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 пмоль/л

Полученные значения концентраций свободного ТЗ в исследуемых образцах учитывать только при условии попадания полученного значения концентрации свободного ТЗ в К⁺ в диапазон концентраций, указанных на этикетке флакона.

Интерпретация результатов

Содержание свободного ТЗ в норме составляет 2,5-5,8 пмоль/л.

Примечание: Каждой лаборатории в соответствии с правилами GLP рекомендуется самостоятельно определять диапазон нормальных концентраций свободного трийодтиронина с учетом используемого оборудования, способа взятия крови и методики анализа.

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора – 18 месяцев. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Замораживание не допускается.

Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

Транспортирование

Замораживание не допускается.

Транспортирование наборов – при температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 15 сут.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест- система иммуноферментная для количественного определения свободного трийодтиронина в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-Трийодтиронин-свободный" соответствует ТУ 21.20.23-311-70423725-2021, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов "ИФА-Трийодтиронин-свободный", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); тел. 8 (49643) 3-23-11, 3-30-93, тел./факс (49643) 3-30-85, 8(800) 333-33-47, ekolab-sekretar@mail.ru.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. спорные образцы исследуемого материала пациентов (сыворотка, плазма и пр.);
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов.
4. протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

Символ	Значение символа
	Дата изготовления
	Код партии

	Номер по каталогу
 96	Содержимого достаточно для проведения 96- тестов
	Использовать до
 8°C 2°C	Предел температуры
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Обратитесь к инструкции по применению
	Беречь от влаги
	Осторожно!
	Хрупкое. Осторожно

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе



С.Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

«26» 04 2022 г

**КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
("ИФА-Трийодтиронин-свободный ")**

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести	в соответствии со схемой постановки по 25 мкл КП ₁₋₆ , К ⁺ , исследуемых образцов и по 100 мкл конъюгата
Инкубация	1 ч, 37 °С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл РИ в каждую лунку
Инкубация	10-20 мин, 18-25 °С в защищенном от света месте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм, «бланк» - по воздуху

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

«16» 04 2022 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

9 лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
"16" 04 2022 г.