

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор

ЗАО "ЭКОлаб"



Т.Ю. Гашенко

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов

«Тест- система иммуноферментная для количественного определения тиреотропного гормона» "ИФА-ТТГ"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест- система иммуноферментная для количественного определения тиреотропного гормона» "ИФА-ТТГ" предназначен для количественного определения тиреотропного гормона (ТТГ) в сыворотке крови человека с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе.

Функциональное назначение: диагностика заболеваний тиреоидного профиля. Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Показания и противопоказания к применению изделия

Изделие предназначено для количественного определения тиреотропного гормона (ТТГ) в сыворотке крови человека - основной метод для диагностики заболеваний тиреоидного профиля, для дифференцирования первичного и вторичного гипотиреоза, мониторинга гормональной терапии.

Противопоказаний не существует.

Потенциальные потребители изделия

Лабораторные подразделения лечебно-профилактических учреждений.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

Описание целевого анализата, сведения о его научной обоснованности.

ТТГ – гликопротеин с молекулярным весом около 28000 дальтон, секретируемый передней долей гипофиза, играет центральную роль в регуляции роста и функционирования щитовидной железы. ТТГ стимулирует синтез тиреоидных гормонов. Изменения уровня ТТГ направлены на стабилизацию концентраций T_3 и T_4 .

При гипотиреозе уровень ТТГ повышается. Диагноз подтверждается низкими концентрациями свободного T_4 , T_3 . Низкий уровень ТТГ при гипотиреозе свидетельствует о недостаточности гипофиза или гипоталамуса и исключает первичное нарушение функции щитовидной железы. Определение ТТГ важно для терапевтического мониторинга больных гипотиреозом, ежедневно получающих заместительную терапию тироксином. При гипертиреозе синтез и секреция ТТГ подавлены.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Иммуносорбент	моноклональные антитела к ТТГ, сорбированные в лунках стрипов 96-луночного разборного полистиролового планшета для иммунологических реакций с плоским дном	1 планшет (12 стрипов)
	допускается раздельная упаковка стрипов (по 1-4 стрипа в пакете)	

Калибровочные пробы (КП ₁₋₆)	буферные растворы, содержащие известную концентрацию ТТГ (ориентировочные значения концентрации ТТГ в КП ₁ – 0 мкМЕ/мл, в КП ₂ – 0,25 мкМЕ/мл; в КП ₃ – 0,75 мкМЕ/мл; в КП ₄ – 2,5 мкМЕ/мл; в КП ₅ – 7,5 мкМЕ/мл; в КП ₆ – 25 мкМЕ/мл; точные значения концентраций указываются на этикетках флаконов для каждой серии набора); прозрачная жидкость красного цвета	(КП ₁) – 1 фл. (2,0 мл) (КП ₂₋₆) – 5 фл. (по 0,4 мл)
Контрольный положительный образец (К ⁺)	сыворотка крови человека, содержащая ТТГ в известном диапазоне концентраций (указывается на этикетке флакона для каждой серии набора); прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета	1 фл. (0,4 мл)
Конъюгат	антитела к ТТГ, меченные пероксидазой; прозрачная жидкость синего цвета	1 фл. (15,0 мл)
40-кратный концентрат отмывающего буферного раствора [ОБР(х40)]	прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость, возможно выпадение осадка солей белого цвета, растворяющегося при температуре 37 °С в течение 30 мин.	1 фл. (25,0 мл)
Раствор индикаторный (РИ)	субстратный раствор, содержащий тетраметилбензидин и перекись водорода; прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (15,0 мл)
Стоп-реагент	прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (15,0 мл)
Одноразовые наконечники для автоматических пипеток		16 шт.

Примечания.

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

2. 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).

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

Набор укомплектован принадлежностями:

- вспомогательными пластиковыми емкостями (4 шт.),
- клейкой пленкой для планшетов (4 шт.),

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 отдельных 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

Используется «сэндвич» вариант ИФА с двумя видами моноклональных антител, полученных к разным эпитопам ТТГ. Моноклональные антитела к одному из эпитопов антигена нанесены на поверхность лунок иммуносорбента, антитела к другому эпитопу связаны с ферментом (пероксидазой) и входят в состав конъюгата. При внесении в лунки иммуносорбента исследуемого образца сыворотки и конъюгата происходит образование комплекса /антитело иммуносорбента/-ТТГ/-антитело конъюгата/. Его наличие выявляется по цветной реакции с ТМБ, интенсивность окрашивания реакционной смеси пропорциональна концентрации ТТГ в образце.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность (минимальная определяемая концентрация ТТГ) – 0,02 мкМЕ/мл и менее.

Коэффициент вариации – 8 %.

Процент открытия составляет 90-110%.

Линейность: Зависимость ОП от концентрации ТТГ сохраняет линейный характер в диапазоне от 0,25 мкМЕ/мл до 25 мкМЕ/мл; отклонение от линейности в указанном диапазоне составляет 90-110%.

Интерсепт, в пределах

20%:	4,2 – 5,7
50%:	10,8 – 14,4
80%:	17,3 – 23

Интерферирующие вещества: в исследованных концентрациях не оказывают влияния на результат анализа.

Аналит	Концентрация аналита	«ИФА-ТТГ» Серия 01		«ИФА-ТТГ» Серия 02	
		Конц., мкМЕ/мл, до введения интерферента	Конц., мкМЕ/мл, после введения интерферента	Конц., мкМЕ/мл, до введения интерферента	Конц., мкМЕ/мл, после введения интерферента
Образцы сыворотки, содержащие тиреотропный гормон в пониженной концентрации (0,18 мкМЕ/мл)					
Гемоглобин	200 г/л	0,181	0,182	0,181	0,185
Триглицериды	5,0 мг/мл	0,178	0,179	0,179	0,18
Билирубин	7,0 мг/дл	0,18	0,184	0,18	0,181
Образцы сыворотки, содержащие тиреотропный гормон в нормальной концентрации(1,85 мкМЕ/мл)					
Гемоглобин	200 г/л	1,858	1,872	1,857	1,86
Триглицериды	5,0 мг/мл	1,853	1,859	1,855	1,858
Билирубин	7,0 мг/дл	1,856	1,862	1,852	1,858
Образцы сыворотки, содержащие тиреотропный гормон в повышенной концентрации(9,65 мкМЕ/мл)					
Гемоглобин	200 г/л	9,65	9,70	9,71	9,780
Триглицериды	5,0 мг/мл	9,653	9,693	9,728	9,668
Билирубин	7,0 мг/дл	9,658	9,708	9,741	9,671

Вывод: проведенные исследования показали, что интерферирующие вещества в исследованных концентрациях не оказывают влияния на результат анализа.

Hook-эффект (обратно пропорциональная зависимость ОП от концентрации аналита, возникающая при высоких его концентрациях) не наблюдается до концентрации ТТГ 800 мкМЕ/мл.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови человека объемом не менее 25 мкл.

Сбор образцов крови должен производиться в соответствии с надлежащей практикой методом венепункции (ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических

лабораторных исследований»). Рекомендуется исследование сыворотки крови взятой с 9.00 до 11.00 часов.

Образцы сыворотки до исследования хранить при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания, снижает качество исследуемого материала. 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.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (Приказ МЗ РФ №4н от 6 июня 2012).

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

Контрольный положительный образец (К+) содержит проклин в концентрации 0,1 %. Данная концентрация является безопасной.

Стоп-реагент при попадании на незащищенную кожу и слизистые может вызывать химические ожоги. В случае попадания на кожу – немедленно промойте пораженный участок водой.

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" и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы (для "ручной" постановки)

Дозаторы пипеточные (пипетки полуавтоматические одноканальные на 25 мкл и 100 мкл и многоканальные на 100 мкл) для внесения реагентов в лунки планшета с погрешностью дозирования не более 5 % с наконечниками полипропиленовыми одноразовыми.

Ручные, или автоматические промыватели, или восьми- и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета.

Цилиндр мерный вместимостью 1000 мл.

Термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 400-800 об/мин и температуре 37 ± 1 °С.

Спектрофотометр вертикального сканирования для измерения оптической плотности в лунках планшета при 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-650 нм.

Центрифуга лабораторная на 2,5-3,0 тыс. об/мин, холодильник бытовой, фильтровальная бумага.

Вода очищенная (ФС.2.2.0020.15).

70 %-ный раствор спирта этилового и 6 %-ный раствор перекиси водорода (дез.растворы) или растворы иных дезинфектантов, разрешенных к применению СП 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.

Анализатор иммуноферментный автоматический. «Еволис» (Evolis).

Приготовление рабочих растворов реагентов для ИФА

Приготовление рабочего отмывающего раствора

При выпадении осадка солей в **ОБР(х40)** прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка.

При постановке на полном планшете с использованием ИФА-анализаторов 25мл **ОБР(х40)** довести водой очищенной до 1 л.

При дробной "ручной" постановке использовать соотношения объемов **ОБР(х40)** и воды, указанные в табл. 1 для разного числа используемых стрипов.

Таблица 1

Число стрипов	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ОБР(х40), мл	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	25
Вода очищенная, мл	до 160	до 240	до 320	до 400	до 480	до 560	до 640	до 720	до 800	до 880	до 1000

Готовый рабочий отмывающий раствор хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 30 суток, при комнатной температуре - не более 15 суток.

Примечание: Все реагенты, кроме отмывающего раствора, готовы к применению.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ("ручная" постановка)

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 (пакет с иммуносорбентом выдерживать при указанной температуре **до вскрытия!**). Жидкие реагенты тщательно перемешать. 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.

Исследуемые образцы, в которых ранее была определена концентрация ТТГ более 25 мкМЕ/мл, предварительно развести в КП₁ (концентрация ТТГ должна попадать в диапазон от 0,25 мкМЕ/мл до 25 мкМЕ/мл).

Сохранность иммуносорбента между операциями 15 мин.

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

Рекомендуемая схема внесения образцов при использовании 12 стрипов

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	КП ₁	КП ₁	ИО2	ИО2	ИО10	ИО10	ИО18	ИО18	ИО26	ИО26	ИО34	ИО34
B	КП ₂	КП ₂	ИО3	ИО3	ИО11	ИО11	ИО19	ИО19	ИО27	ИО27	ИО35	ИО35
C	КП ₃	КП ₃	ИО4	ИО4	ИО12	ИО12	ИО20	ИО20	ИО28	ИО28	ИО36	ИО36
D	КП ₄	КП ₄	ИО5	ИО5	ИО13	ИО13	ИО21	ИО21	ИО29	ИО29	ИО37	ИО37

Е	КП ₅	КП ₅	ИО6	ИО6	ИО14	ИО14	ИО22	ИО22	ИО30	ИО30	ИО38	ИО38
F	КП ₆	КП ₆	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

1. 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.
2. 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 на каждом этапе 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.

3. Инкубировать планшет при температуре 37°C на шейкере при 500 об/мин в течение 1 ч.
4. По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер для сбора жидких отходов и промыть лунки 5 раз отмывающим буферным раствором, заполняя лунки до краев и выдерживая их с отмывающим буферным раствором каждый раз по 30 с. По окончании промывки остатки раствора удалить из лунок, постукивая перевернутым планшетом по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге.
5. Внести во все лунки по 100 мкл РИ и выдержать стрипы 15 - 20 мин в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25°C или 15 мин в термошейкере при температуре 37°C.
6. Добавить по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку, соблюдая последовательность и скорость внесения в них РИ и не более чем через 15 мин приступить к учету результатов.

Регистрация и учет результатов

Результаты ИФА регистрировать спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-650 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-650 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм, а выведение спектрофотометра на нулевой уровень ("бланк") осуществлять по воздуху.

Результаты ИФА учитывать при следующих условиях:

ОП_{450нм} КП₆ – более 1,5

ОП_{450нм} КП₁ – менее 0,150.

В противном случае исследование необходимо повторить.

Построить калибровочную кривую по точкам, ординатами которых являются полученные в ИФА значения ОП КП, а абсциссами – концентрации ТТГ в этих пробах, указанные на этикетках флаконов, и определить по данной кривой концентрации ТТГ в К⁺ и исследованных образцах (для разведенных образцов полученную по графику концентрацию ТТГ необходимо умножить на степень разведения образца).

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения использовать метод линейной регрессии.

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

Интерпретация результатов

Содержание ТТГ в норме составляет 0,3 – 4,0 мкМЕ/мл.

Примечание: Каждой лаборатории рекомендуется самостоятельно определять диапазон нормальных концентраций ТТГ с учетом используемого оборудования, способа взятия крови и методики анализа.

ПОСТАНОВКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-АНАЛИЗАТОРОВ

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по 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 регламентируемый 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 регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до 6 мес.

Транспортирование

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 суток.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения тиреотропного гормона» "ИФА-ТТГ" соответствует ТУ 9398-196-70423725-2014 с изм. №1, №2 национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов "ИФА-ТТГ" следует обращаться по адресу: 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а. Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); 8(49643) 3-23-11; 3-30-93; тел./ факс (49643) 3-30-85; тел. 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. все спорные исследуемые образцы пациентов;
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.

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С.Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДИЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

«09» 02 2022г



КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА (ИФА-ТТГ)

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 ⁰ С на шейкере при 500 об/мин
Промыть	5 раз отмывающим буферным раствором
Внести	по 100 мкл РИ в каждую лунку
Инкубация	15-20 мин, в защищенном от света месте при 18-25 ⁰ С или 15 мин в термошейкере при температуре 37 ⁰ С
Внести	по 100 мкл стоп-реактанта в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху



ПРОШУТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«02» 02 2022 год

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



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

лист 08

Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
"06" 06 2022 г.