"УТВЕРЖДАЮ"
Генеральный директор
ЗАО "ЭКОлаб"

_____ В.Ю. Борисов
"15" 03. 2021 г.

И Н С Т Р У К Ц И Я
по применению набора реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения свободного тироксина в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-Тироксин-свободный"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения свободного тироксина в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-Тироксин-свободный" предназначен для количественного определения свободного тироксина (св. Т4) в сыворотке или плазме крови человека с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Функциональное назначение

Скрининг и диагностика.

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 Т4 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 аналита, сведения о его научной обоснованности

Тироксин (Т4) — тиреоидный гормон, определение уровня которого в сыворотке используется для оценки функционального статуса щитовидной железы, для мониторинга при лечении.

Т4 синтезируется в щитовидной железе, поступает в кровь, где основная его часть связывается с сывороточными белками для транспортирования в клетки. Лишь примерно 0,03% от концентрации общего циркулирующего тироксина остается в свободном состоянии.

Считается, что биологически активным является именно свободный гормон. Концентрация свободного Т4 менее, чем общего, зависит от уровня связывающих белков или силы их взаимодействия. Следовательно, количественное определение свободного Т4 является более точным показателем для оценки состояния щитовидной железы пациента.

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Наименование компонента	Характеристика компонента	
Иммуносорбент	Поликлональные антитела к Т4, 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 ($К^+$)	Инактивированный; жидкая сыворотка крови человека, содержащая свободный тироксин в известном диапазоне концентраций (указывается на этикетке флакона для каждой серии набора); прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость желтоватого цвета	1 фл. (0,5 мл)
Калибровочные пробы (КП $_{1-6}$)	Инактивированные пробы, содержащие известную концентрацию свободного тироксина (ориентировочные значения концентрации св.$Т_4$ в $КП_1$ – 0 пмоль/л, в $КП_2$ –5 пмоль/л; в $КП_3$ – 10 пмоль/л; в $КП_4$ – 25 пмоль/л в $КП_5$ – 50 пмоль/л; в $КП_6$ – 100 пмоль/л; точные значения концентраций указываются на этикетках флаконов для каждой серии набора); прозрачные или слегка опалесцирующие жидкости желтоватого цвета	$КП_1$ -1 фл. (0,5 мл) $КП_2$-1фл. (0,5 мл) $КП_3$-1 фл. (0,5 мл) $КП_4$-1 фл. (0,5 мл) $КП_5$-1 фл. (0,5 мл) $КП_6$- 1 фл. (0,5 мл)
Конъюгат	Тироксин, меченный пероксидазой хрена; прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета	1 фл. (18 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. (28 мл)
Раствор индикаторный (РИ)	Субстратный раствор, содержащий тетраметилбензидин и перекись водорода; прозрачная бесцветная жидкость	1 фл. (15 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. [ОБР(х40)], стоп-реагент – унифицированы для всех наборов ЗАО "ЭКОлаб", в которых используются указанные реагенты. Допускается использование РИ из разных серий набора

3. Допускается использование неспецифических реагентов из разных серий набора реагентов.

4. $К^+$ и КП (1-6) не содержат 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:

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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 T_4, за которые в ходе реакции конкурируют сывороточный свободный T_4, содержащийся в исследуемых образцах, и T_4, 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 тироксина в исследуемых пробах.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная сыворотка или плазма крови человека объемом не менее 40 мкл.

Образцы сыворотки (плазмы) крови до исследования можно хранить не более 7 сут 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. 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.

Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Специфичность

Перекрестная реакция антител к тироксину с трийодтиронином не превышает 1%.

Воспроизводимость

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

Линейность

Зависимость концентрации от разведения для свободного тироксина в образцах сыворотки крови при использовании для этого сыворотки крови, не содержащей стероидов, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 5–100 пмоль/л, отклонение не превышает 10%.

Точность

Процент «открытия» составляет 90-110%.

Чувствительность

Минимальная достоверно определяемая концентрация свободного тироксина в сыворотке крови не превышает 1,0 пмоль/л.

Специфичность: Следующие вещества были проанализированы на кросс-реактивность:

Аналит	Перекрестная реакция
L-тироксин	100 %
L-трийодтиронин	< 0,1 %
L-дийодтирозин	< 0,1 %

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

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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 клинико-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 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» 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 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" и МУ 287-113 "Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения".

Перечень рисков, идентифицированных в процессе анализа риска, и способы управления ими представлены отдельным документом (см. Анализ рисков).

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 (стакан) 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 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;
- 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 1.32322-08, кроме хлорсодержащих.
- ИФА-анализатор.

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 промывочного раствора ОБР(х40)

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

При выпадении осадка солей в ОБР(х40) прогреть его при температуре 37 °С до полного растворения осадка и перед разведением охладить до температуры 25 °С.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

В зависимости от числа используемых стрипов отобрать необходимый объем концентрата ОБР(х40) и довести его водой очищенной до объема, указанного в табл. 1.

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	28
Вода очищенная, мл	до 160	до 240	до 320	до 400	до 480	до 560	до 640	до 720	до 800	до 880	до 1120

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от 2 до 8 ºС не более 190 сут, при температуре от 18 до 25 ºС – не более 30 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 20 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 закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой. Инкубировать 60 мин при температуре 37 °С в защищенном от света месте.

4. С помощью промывателя удалить образцы из лунок. Стрипы промыть 5 раз ОБР, 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 и выдержать 15 мин при температуре 18-25°С.

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 5 мин приступить к учету результатов.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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 – концентрации свободного T_4 в этих пробах, указанные на этикетках флаконов, и определить по данной кривой концентрации свободного T_4 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.

Полученные значения концентраций свободного T_4 в исследуемых образцах учитывать только при условии попадания полученного значения концентрации свободного T_4 в $К^+$ в диапазон концентраций, указанных на этикетке флакона.

Интерпретация результатов

Содержание свободного Т4 в норме составляет 9-23 пмоль/л.

Примечание: Каждой лаборатории рекомендуется самостоятельно определять диапазон нормальных концентраций свободного тироксина 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 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 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.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «Тест- система иммуноферментная для количественного определения свободного тироксина в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-Тироксин-свободный" соответствует ТУ 21.20.23-308-70423725-2020, Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности (см. Сведения о нормативной документации).

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов "ИФА-Тироксин-свободный", следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1-1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО "ЭКОлаб"); тел. (49643) 3-23-11, факс (49643) 3-30-93 – отдел сбыта, (49643) 3-37-30 – ОБТК, 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

IVD	Только для диагностики *in vitro*
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Хранить при температуре
	Биологическая опасность

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе С.Г. Марданлы

"СОГЛАСОВАНО"

Генеральный директор ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

«15» 03 2020 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

КРАТКАЯ СХЕМА ПОСТАНОВКИ ИФА
("ИФА-Тироксин-свободный ")
Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести	в соответствии со схемой постановки по 20 мкл $КП_{1-6}$, $К^{+}$, исследуемых образцов и по 100 мкл конъюгата
Инкубация	1 ч, 37 ^{0}С
Промыть	5 раз промывочным раствором
Внести	по 100 мкл РИ в каждую лунку
Инкубация	15 мин, 18-25 ^{0}С в защищенном от света месте
Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
Измерить	ОП при 450 нм (референс 620-650 нм), «бланк» - по воздуху

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«15» 03 2021 год

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

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
8 лист 06
Ген.Директор ЗАО "ЭКОлаб"
Борисов В.Ю.
«15» 03 2021 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU