

Інструкція з використання ТЗ ІФА 2 го покоління

TF E-2300

IVD



ВСТУП

Використання за призначенням

ТЗ ІФА є імуноферментним аналізом для кількісної діагностики *in vitro* вимірювання загального ТЗ (Трийодтироніну) в сироватці та плазмі.

Короткий опис і пояснення

Вимірювання концентрації в сироватці крові трийодтироніну, як правило, розглядається як цінний інструмент в діагностиці дисфункції щитовидної залози. Це значення послужило поштовхом для значного поліпшення в методології аналізу, яка відбулася протягом останніх двох десятиліть. Поява моно специфічної анти сироватки, а також відкриття блокуючих агентів до зв'язування білків сироватки ТЗ дозволило розвиток процедурно простого радіоімуноаналізу (1,2).

ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Набір ТЗ ІФА є твердофазним імуноферментним аналізом (ІФА), заснованим на принципі конкурентного зв'язування. Лунки мікропланшету покриті поліклональним антитілом кози проти миші. Стандарти, контролю і сироватку пацієнта інкубують разом з реагентом, що містить моноклональні анти-ТЗ антитіла. У наступній інкубації з кон'югатом ендогенний ТЗ в зразку пацієнта конкурує з ТЗ-пероксидазою хрону кон'югатом для обмеженого числа нерозчинних сайтів зв'язування.

Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивається.

Кількість пов'язаного кон'югату пероксидази обернено пропорційна концентрації ТЗ в зразку.

Після додавання розчину субстрату, інтенсивність розвиненого кольору обернено пропорційна Концентрації ТЗ в зразку пацієнта.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Цей набір призначений тільки для діагностики в пробірці. Тільки для професійного використання.
2. Всі реагенти даного набору, які містять людську сироватку або плазму, були перевірені і підтверджені негативним ВІЛ-I / II, HBsAg і HCV по FDA затверджених процедурах. Всі реагенти, однак, повинні розглядатися як потенційно інфіковані у використанні і для утилізації.
3. Перед початком аналізу, прочитайте інструкцію повністю й уважно. Використовуйте дійсну версію інструкції із застосування, що поставляється в наборі. Переконайтеся, що все зрозуміло.
4. Мікропланшет містить стріпи, що відламуються. Невикористані лунки повинні зберігатися при температурі від 2 ° C до 8 ° C в герметично закритому мішечку з фольги і використовуватися в передбачених рамках .
5. Піпетування зразків і реагентів повинно бути зроблено настільки швидко, наскільки це можливо, і в тій же послідовності для кожного кроку.
6. Використовуйте резервуари тільки для окремих реагентів. Це особливо відноситься до резервуарів субстрату. Використання резервуару для дозування розчину субстрату, який раніше був використаний для розчину кон'югату, може привести до забарвлення розчину. Не вливайте реагенти назад у флакон, оскільки може відбуватися забруднення.
7. Змішайте вміст стріпи ретельно, щоб забезпечити хороші результати тестування. Не використовуйте мікропланшет повторно.
8. Не допускайте висихання лунок під час аналізу; додати реагенти відразу після завершення стадії ополіскування.
9. Довести реагенти до кімнатної температури (21 ° C - 26 ° C) до початку випробування. температура буде впливати на показання абсорбції аналізу. Однак значення для зразків пацієнтів не будуть порушені.
10. Ніколи не піпетувати ротом і уникати контакту реагентів і зразків з шкірою та слизовими оболонками.
11. Не курити, не їсти, пити або застосовувати косметику в місцях, де обертаються зразки або реагенти набору.
12. Використовуйте одноразові латексні рукавички при зверненні із зразками і реагентами. Мікробіологічне забруднення реагентів або зразків може давати помилкові результати.

13. Вантажно-розвантажувальні роботи повинні здійснюватися відповідно до процедур, визначених відповідним національним законодавством щодо біологічно небезпечних речовин, керівництвом з безпеки або регулюванням.
14. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, якій позначений на етикетках набору.
15. Всі зазначені обсяги повинні бути виконані відповідно до протоколу. Оптимальні результати випробувань отримуються тільки при використанні каліброваних піпеток і рідерів мікропланшетів.
16. Не слід змішувати або використовувати компоненти з наборів з різними номерами лотів. Рекомендується не змінювати місцями лунки різних плит навіть однієї і тієї ж ділянки. Набори можуть транспортуватися або зберігатися в різних умовах, характеристики зв'язування пластин можуть привести до дещо інших результатів.
17. Уникайте контакту з Стоп-розчином, що містить 0,5 М H₂SO₄. Це може викликати роздратування шкіри і опіки.
18. Деякі реагенти містять проклін 300, БНД і / або MIT в якості консервантів. У разі контакту зі шкірою або очима, негайно промийте водою.
19. ТМВ субстрат має подразнюючу дію на шкіру та слизову оболонку. У разі можливого контакту, промийте очі з рясним обсягом води і шкіри з милом і великою кількістю води. Промити забруднені об'єкти перед їх повторним використанням. При вдиханні вивести людину на свіже повітря.
20. Хімічні речовини і приготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національного законодавства щодо біологічної небезпеки, керівництвом безпеки або регулюванням.
21. Для отримання інформації про небезпечні речовини, включені в комплект поставки, будь ласка, зверніться до Паспорту безпеки. Паспорти безпеки для даного продукту доступні за запитом безпосередньо у виробника.

РЕАГЕНТИ

Реагенти, що постачаються

TF E-2331 лунки мікропланшету

12 x 8 смужок, що розламуються, 96 лунок;

Лунки, покриті кози анти - мишачим антитілом (поліклональним).

Стандарти

Готові до використання

	Кат №	Стандарт	концентрація	Обсяг/флакон
STANDARD A	TF E 2301	Стандарт А (0)	0 нг/мл	0,75 мл
STANDARD B	TF E 2302	Стандарт В (1)	0,5 нг/мл	0,75 мл
STANDARD C	TF E 2303	Стандарт С (2)	1,0 нг/мл	0,75 мл
STANDARD D	TF E 2304	Стандарт Д(3)	2,5 нг/мл	0,75 мл
STANDARD E	TF E 2305	Стандарт Е (4)	5,0 нг/мл	0,75 мл
STANDARD F	TF E 2306	Стандарт F (5)	10,0 нг/мл	0,75 мл

Містить нертутий консервант.

CONTROL 1 TF E-2351 контроль низький

1 флакон, 0,75 мл, готовий до використання;

Для отримання контрольних значень і діапазонів см етикетку флакона або QC-таблиці.

Містить нертутий консервант.

CONTROL 2 TF E- 2352 Високий контроль

1 флакон, 0,75 мл, готовий до використання;

Для отримання контрольних значень і діапазонів см етикетку флакона або QC-таблиці.
Містить нертутний консервант.

ASSAY REAG TF E-2313 Реагент аналізу

1 флакон, 6 мл, готовий до використання,
Містить буфер, зв'язування інгібіторів білка і анти-Т3 м-антитіло.
Містить нертутний консервант.

CONJUGATE TF E-2340 Ферментний кон'югат

1 флакон, 6 мл, готовий до використання,
Т3, кон'югований з пероксидазою хрому;
Містить нертутний консервант.

SUBSTRATE TF E-0055 Розчин субстрату

1 флакон, 12 мл, готовий до використання,
Тетраметилбензидин (ТМВ).

STOP-SOLN FR-E 0080 Стоп-розчин

1 флакон, 14 мл, готовий до використання,
містить 0,5 М H₂SO₄,
Уникати контакту зі стоп-розчином. Це може викликати роздратування шкіри і опіки.

Небезпеки



ідентифікація:

H290 Може бути корозійним для металів.

H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей

WASH-CONC 40x FR-E 0030 промивний розчин

1 флакон, 30 мл (40X концентрований),
Дивіться «Підготовка реагентів».
Примітка: Додатковий стандарт А для розведення зразка доступний за запитом.

Необхідні матеріали, не включені в постачання

- калібрований Рідер мікропланшетів (450 ± 10 нм).
- калібровані різні прецизійні мікропіпетки.
- фільтрувальний папір.
- Дистильована або дейонізована вода
- Таймер
- Напівлогарифмічний папір або програмне забезпечення для обробки даних

Умови зберігання

При зберіганні при температурі від 2 ° С до 8 ° С невідкриті реагенти зберігають активність до закінчення терміну придатності. Не використовуйте реагенти після цієї дати.

Відкриті реагенти повинні зберігатися при 2 ° С до 8 ° С. Лунки мікропланшету повинні зберігатися при 2 ° С до 8 ° С. Після того, як пакет з фольги був відкритий, слід подбати, щоб його знову щільно закрили. Відкриті набори зберігають активність протягом 8 тижнів, якщо зберігати, як описано вище.

Підготовка реагентів

Доведіть все реагенти і необхідну кількість смужок до кімнатної температури перед використанням.

Розчин для промивання

Додайте дейонізованої води в 40х концентрований промивний розчин.

Розвести 30 мл концентрованого розчину для промивання з 1170 мл дейонізованої води до кінцевого об'єму 1200 мл. Розведений розчин для промивання стабільний протягом 2 тижнів при кімнатній температурі.

Утилізація набору

Утилізація набору повинна проводитися відповідно до національних правил. Спеціальна інформація для даного продукту приведена в паспорті безпеки продукту.

Пошкоджені набори

У разі серйозного пошкодження набору або його компонентів, виробник повинен бути проінформований у письмовому вигляді, не пізніше, чим через тиждень після отримання набору. Пошкоджені компоненти не повинні використовуватися для тестового прогону. Вони повинні бути збережені до знайдення остаточного рішення. Після цього, вони повинні бути розташовані відповідно з офіційними правилами.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА

Сироватка або плазма (EDTA- або гепарин плазма) може бути використані в даному аналізі.

Не використовуйте гемолітичні, жовтяничні або ліпемічні зразки.

Будь ласка, зверніть увагу: Зразки, що містять азид натрію, не повинні використовуватися в аналізі.

ЗБІР ЗРАЗКІВ

Сироватка:

Збирають кров з вени (наприклад, Sarstedt Monovette для сироватки), дають згорнутися, відділити сироватку центрифугуванням при кімнатній температурі. Не центрифугувати до повного згортання. Пацієнти, які отримують антикоагулянтну терапію, можуть зажадати збільшення часу згортання крові.

Плазма:

Цілісна кров повинна бути зібрана в центрифужні пробірки, що містять антикоагулянт (наприклад Sarstedt Monovette з відповідними препаратами плазми) і центрифугована відразу після збору.

Зберігання та підготовка зразків

Зразки повинні бути закритими і можуть зберігатися протягом 48 годин при температурі від 2 ° С до 8 ° С до проведення аналізу.

Зразки, що зберігаються протягом більш тривалого часу (до 30 днів) повинні бути заморожені тільки один раз при температурі від -20 ° С до аналізу. Талі зразки повинні бути кілька разів перевернуті перед тестуванням.

Розведення зразків

Якщо у вихідному аналізі, зразок знайдений, щоб утримувати більш ніж на найвищому рівні, зразки можуть бути розбавлені Стандартом А і знову проаналізовані, як описано в Процедурі аналізу.

Для розрахунку концентрацій цього фактора розведення необхідно брати до уваги.

Приклад:

а) розведення 1:2 : Зразок 30 мкл + 30 мкл Стандарт А (ретельно перемішати)

ПРОЦЕДУРА ДОСЛІДЖЕННЯ

загальні зауваження

- Все реагенти і зразки повинні мати можливість прийти до кімнатної температури перед використанням. Всі реагенти повинні бути змішані без утворення піни.
- Після початку тесту всі кроки повинні бути завершені без перерви.
- Використовуйте одноразові наконечники пластикових піпеток для кожного стандарту, контролю або зразка для того, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Абсорбція є функцією часу інкубації і температури. Перед початком аналізу, рекомендується, щоб всі реагенти були приготовлені, зняти кришки, всі необхідні лунки закріпити в тримачі і т.д. Це забезпечити рівне минулий час для кожного розкопування без перерви.
- Як правило, ферментна реакція лінійно пропорційна часу і температурі.

Процедура аналізу

Кожен прогін повинен включати в себе стандартну криву.

1. Закріпити необхідну кількість лунок в тримачі рами.
2. Розподілити 50 мкл кожного стандарту, контролю і зразка з новими одноразовими наконечниками до відповідних лунок. Важливо додати перші стандарти або зразки перед додаванням реагенту Аналізу.
3. Додати 50 мкл реагенту Аналізу в кожен лунку.
Ретельно перемішати протягом 10 секунд. Важливо мати повне змішання на даному етапі.
4. Інкубувати протягом 30 хвилин при кімнатній температурі (20 ° С - 27 ° С).
5. Внесіть 50 мкл ферментного кон'югату в кожен лунку.
Ретельно перемішати протягом 10 секунд. Важливо мати повне змішання на даному етапі.
6. Інкубувати протягом 30 хвилин при кімнатній температурі (20 ° С - 27 ° С).
7. Швидко витрусіть вміст лунок. Промити лунки 5 разів розведеним мийним розчином (300 мкл на лунку).
Перевернути лунки різко на адсорбуючий папір, щоб видалити залишки вологи.

Важливе зауваження:

Чутливість і точність цього аналізу залежать від правильного виконання пральної процедури!

8. Додайте 100 мкл розчину субстрату в кожен лунку.
9. Інкують протягом 10 хвилин при кімнатній температурі (20 ° С - 27 ° С).
10. Зупинити ферментативну реакцію додаванням 100 мкл стоп-розчину в кожен лунку.
11. Визначити оптичну густину (ОГ) кожної лунки при 450 ± 10 нм з рідером мікропланшетів.
Рекомендується, щоб лунки були зчитані протягом 10 хвилин після додавання стоп-розчину.

Розрахунок результатів

1. Обчислити середню абсорбцію для кожного набору стандартів, контролів і зразків пацієнтів.
2. Використовуючи напівлогарифмічний міліметровий папір, побудувати стандартну криву, відкладаючи середню абсорбцію, отриману від кожного стандарту проти його концентрації зі значенням оптичної щільності на вертикальній (Y) осі і концентрації на горизонтальній осі (X) осі.
3. Використовуючи значення середньої абсорбції для кожного зразка визначити відповідну концентрацію від стандартної кривої.
4. Автоматичний метод: Результати, наведені в інструкції по експлуатації були розраховані автоматично з використанням 4 Параметра кривої посадки. (4 Параметр Rodbard або 4 параметра Маркардт є кращими способами). Інші функції обробки даних можуть дати трохи різні результати.
5. Концентрацію зразків можна зчитувати безпосередньо зі стандартної кривої. Зразки з концентрацією вище, ніж у самого високого стандарту повинні бути додатково розбавлені, або, як повідомлялося > 10 нг / мл. Для розрахунку концентрацій цього фактора розведення необхідно брати до уваги.

Приклад типової калібрувальної кривої

Наступні дані тільки для демонстрації і не можуть бути використані замість поколінь даних під час аналізу.

Стандарт	Оптичні одиниці(450 нм)
Стандарт А (0,0 нг/мл)	1,89
Стандарт В (0,5 нг/мл)	1,42
Стандарт С (1,0 нг/мл)	1,13
Стандарт D (2.5 нг/мл)	0,58
Стандарт Е (5,0 нг/мл)	0,36
Стандарт F (10.0 нг/мл)	0,20

Очікувані ЗНАЧЕННЯ НОРМАЛЬНІ

Настійно рекомендується кожній лабораторії визначити свої власні нормальні і ненормальні значення. У дослідженні, проведеному з еутиреоїдним дорослим населенням за допомогою загального ТЗ ІФА наступні значення спостерігалися:

Населення	кількість	Діапазон (нг/мл)	Значення (нг/мл)	2,5-97,5 Процентіль (нг/мл)	Значення (нг/мл)
Чоловіки та жінки	140	0,63-1,99	1,19	0,75-1,70	1,18

Одні результати не повинні бути єдиною причиною для будь-яких терапевтичних наслідків. Результати повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями і діагностичними тестами.

Загальна концентрація сироватки трийодтироніну залежить від безлічі факторів:

Функції щитовидної залози і її регулювання, тироксину глобуліну концентрації (ТБГ), а також зв'язування трийодтироніну до ТБГУ (3, 4). Таким чином, одна загальна концентрація трийодтироніну не є достатньою для оцінки клінічного стану.

Зменшення загальних значень трийодтироніну зустрічається при білкових затратних захворюваннях, деяких захворюваннях печінки і введення тестостерону, дифенілгідантоїну або саліцилатів.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Належна лабораторна практика вимагає, щоб контролі працювали з кожною стандартною кривою.

Статистично значуща кількість контролів повинна бути проаналізована, щоб встановити середні значення і прийнятні діапазони для забезпечення належної продуктивності.

Рекомендується використовувати контрольні зразки відповідно до державних і федеральних нормативів.

Використання контрольних зразків рекомендується для забезпечення повсякденно достовірних результатів.

Використовуйте контролі нормальних і патологічних рівнів.

Контролі і відповідні результати лабораторії КЯ вказані в сертифікаті КЯ, доданому до комплекту. Значення і діапазони, зазначені на аркуші КЯ завжди відносяться до поточного лоту набору і повинні використовуватися для прямого порівняння результатів.

Також рекомендується використовувати національні або міжнародні програми оцінки якості для забезпечення точності результатів.

Використовуйте відповідні статистичні методи для аналізу контрольних значень і тенденцій. Якщо результати аналізу зробленого не відповідають встановленим допустимим діапазонам контрольних матеріалів, результати пацієнта повинні бути визнані недійсними.

У цьому випадку, будь ласка, перевірте наступні технічні дані: пристрій піпетування; фотометр, закінчення терміну дії реагентів, зберігання і умови інкубації, аспірація і методи промивки.

Після перевірки зазначених вище пунктів, не знаходячи будь-яких помилок, зверніться до дистриб'ютора або до виробника безпосередньо.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

Аналіз динамічного діапазону

Діапазон аналізу становить від 0,1 - 10 нг / мл.

Специфічність антитіл (Перехресна реактивність)

Наступні речовини були випробувані на перехресну реактивність в тесті:

Речовина	Перехресна реактивність (%)
I-трийодтиронін	100
I-тироксин	0,37
Зворотний ТЗ	0.75
D-тироксин	0,1
3,5-дійод-L-тирозин	0,2
4-феноксіфенол	0,2

Чутливість

Аналітична чутливість ТЗ ІФА розраховували шляхом віднімання 2 стандартних відхилень від значення 20

Реплікацій аналізу стандарту А (S0) і було встановлено, що <0,1 нг / мл.

Відтворюваність

В аналізі

Межі варіабельності в аналізі наведені нижче:

зразок	кількість	Значення (нг/мл)	CV (%)
1	20	1,15	6,61
2	20	1,69	6,54
3	20	2,85	3,59

Між аналізами

Варіабельність між аналізами наведено нижче:

зразок	кількість	Значення (нг/мл)	CV (%)
1	10	0,94	6,37
2	10	1,52	5,23
3	10	2,86	6,73

Відновлення

Зразки були збагачені додаванням ТЗ розчинів з відомими концентраціями в співвідношенні 1: 1.

% відновлення був розрахований шляхом множення коефіцієнта вимірювань і очікуваних значень з 100 (очікуване значення = (ендогенний ТЗ + доданий ТЗ) додають / 2; через 1: 2 розведення сироватки з піковим матеріалом).

	Зразок1	Зразок2	Зразок3
Концентрація (нг/мл)	1,09	1,38	2,37
Середнє відновлення [%]	102,5	103,0	105,3
Діапазон відновлення від (%)	99,8	88,4	98,9
	106,9	109,2	108,7
до			

Лінійність

	Зразок1	Зразок2	Зразок3
Концентрація (нг/мл)	3,70	3,90	3,36
Середнє відновлення [%]	104,8	100,1	100,1
Діапазон відновлення від (%)	100,0	94,9	95,1
	111,0	106,8	107,3
до			

ОБМЕЖЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Надійні і відтворювані результати будуть отримані, коли процедура аналізу виконується з повним розумінням інструкції пакета вставки і з дотриманням належної лабораторної практики.

Будь-яке неправильне поводження зі зразками або модифікація цього тесту можуть вплинути на результати.

Вплив ліків

Таблиця впливу ліків і умови, які впливають на сумарні значення трийодтироніну була складена Журналом Американської асоціації клінічних Хіміків (3)

Висока доза Хук-ефект

Хук ефект не спостерігався в цьому тесті.

ПРАВОВІ АСПЕКТИ

Достовірність результатів

Випробування повинно бути виконано точно відповідно до інструкцій виробника щодо застосування. Крім того, користувач повинен строго дотримуватися правил GLP (належної лабораторної практики) або інших застосовних національних стандартів та / або

законів. Це особливо актуально для використання контрольних реагентів. Важливо завжди включати в тест процедуру достатню кількість контролів для перевірки правильності і точності тесту.

Результати випробувань дійсні тільки тоді, коли всі контролі знаходяться в межах зазначених діапазонів, і, якщо всі інші параметри випробувань також в рамках заданих специфікацій аналізу. У разі будь-яких сумнівів або занепокоєння, будь ласка, зверніться до виробника.

Терапевтичні наслідки

Терапевтичні наслідки не повинні бути засновані на результатах лабораторних аналізів в поодиночці, навіть якщо все результати випробувань в Угоді з деталями, як зазначено в пункті 11.1. Будь-який результат лабораторного дослідження є тільки частиною загальної клінічної картини пацієнта.

Тільки в тих випадках, коли лабораторні результати знаходяться в прийнятній згоді із загальною клінічною картиною, терапевтичні наслідки повинні бути отримані.

Сам результат тесту не повинен бути єдиним фактором, що визначає, для отримання будь-яких терапевтичних наслідків.

Відповідальність

Будь-яка модифікація тестового набору і / або обміну або суміші будь-яких компонентів різних партій з одного тест набору на інший може негативно вплинути на очікувані результати і валідність загального тесту. така модифікація і / або обміни є недійсними для будь-яких претензій на заміну.

Претензії, подані у зв'язку з неправильною інтерпретацією результатів лабораторних досліджень, які підлягають до точки 11.2. є також недійсними.

Незважаючи на це, в разі будь-яких претензій, відповідальність виробника не повинна перевищувати значення випробувального комплекту. Будь-який збиток, нанесений тестовому набору під час транспортування не підлягає відповідальності виробника.

Список літератури / ЛІТЕРАТУРА

1. Баркер, С.Б., «Визначення білка зв'язаного йоду.» Journal біологічної хімії, 173, 175, (1948).
 2. Чопра, I.J., Соломон, причальна тумба, і Х, протоколіст, «Радіоімунаналіз трийодтироніну,» J. Clinical Endocrinol, 33, 865 (1971).
 3. Молоді, Д.С., Pestaner, L.C. і Gilberman, У., «Вплив ліків на клінічних лабораторних випробувань.» Клінічна хімія, 21, 3660 (1975).
 4. Стерлінг, Л., діагностика і лікування захворювань щитовидної залози, Клівленд, CRC Press, П. 19 51 (1975).
- Умовні позначення :

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо <N> випробувань
 Дата закінчення терміну придатності	LOT Код партії	IVD Тільки для ін вітро діагностики в лабораторних умовах!
 Зверніться до інструкції з використання	CONT Зміст	CE Маркування
Небезпека	REF Каталожний номер	RUO тільки для дослідницьких цілей

