



**Інструкція**  
**з використання тест-системи**  
**для визначення вільного тироксину в сироватці крові**  
**T4 вільний-ІФА**

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 96 визначень з урахуванням холостих і калібрувальних проб при витраті реактивів відповідно цієї методики.

**Принцип методу**

У наданій тест-системі використовується принцип конкурентного імуноферментного аналізу. У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-T4-антитіла) вносять досліджуваний зразок та кон'югат (T4, мічений пероксидазою). T4 вільний із зразка конкурує з кон'югатом за зв'язок з антигеном на поверхні лунки. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату та вимірюється при довжині хвилі 450 nm (нм).

Інтенсивність кольорової реакції зворотно пропорційна кількості T4 вільного в зразку.

**Клінічне значення**

T4, тироксин – основний гормон щитовидної залози. Біосинтез T4 цілком протікає в клітинах щитовидної залози під контролем тиреотропного гормону (ТТГ), секреція якого, у свою чергу, знаходиться в зворотній негативній залежності від рівня тиреоїдних гормонів. Йод, що потрапляє в організм, всмоктується через стінки кишечника і надходить у фолікулярні клітини щитовидної залози, де негайно окислюється пероксидазою щитовидної залози та зв'язується з тирозиновими залишками тиреоглобуліна. При відщепленні від T4 молекули йоду, він перетворюється в більш активний T3, (трийодтиронін). За рівнем T4 у крові можна судити про функції щитовидної залози. Велика частина циркулюючого в крові T4 пов'язана з транспортними білками, біологічні ефекти надає вільна частина гормону – T4 вільний, що складає 0.02-0.04% від концентрації загального T4. Підвищуючи швидкість основного обміну, збільшує теплопродукцію, споживання кисню тканинами організму. Що збільшує потребу організму у вітамінах. Стимулює синтез вітаміну А в печінці. Знижує концентрацію холестерину і тригліцеридів у крові, прискорює обмін білка. Підвищує екскрецію кальцію з сечею, активує обмін кісткової тканини, але більшою мірою - резорбцію кістки. Стимулює ретикулярну формацію і коркові процеси в центральній нервовій системі. Рівень вільного T4 є більш надійним параметром, ніж рівень загального T4, тому що вільна форма гормону є біологічно активною.

Підвищення значень вільного T4: первинний, вторинний гіпертиреоз; стани з підвищенням рівня тироксин-зв'язуючих білків - вагітність, прийом естрогенів, генетичне підвищення, первинний біліарний цироз, міеломи з високим рівнем IgG; ятрогенний або штучний гіпертиреоз; гострий тиреоїдит; гепатит; ожиріння; гострі психічні розлади; хоріокарцінома; прийом таких препаратів, як: аміодарон, леводопи, опіати, фенотіазини, простагландини, тиреоліберином, препарати гормонів щитовидної залози, естрогенів (пероральних контрацептивів) та ін.

Зниження значень вільного T4 відбувається при первинному, вторинному, третинному гіпотиреозі; підвищеній втраті білків; синдромі Іценко-Кушинга; значному дефіциті йоду; надмірному фізичному навантаженні; прийомі таких препаратів, як: барбітурати, бромокриптин, цитостатики, глюкокортикоїди, інтерферон, I 131, пеніцилін, трийодтиронін, анаболічні стероїди та ін.

**Склад набору**

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір калібраторів та контролю по 0.5 ml (мл) (всього 6 калібраторів: 0, 5, 10, 25, 50, 100 pmol/l (пмоль/л); 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 ml (мл) (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 ml (мл) (1 фл.)
6. Субстрат, 11 ml (мл) (1 фл.)

7. Зупиняючий розчин, 11 ml (мл) (1 фл.)
8. Інструкція з використання
9. Паспорт

**Аналітичні характеристики**

Чутливість методу: 2.5 pmol/l (пмоль/л).

Очікуванні коливання контролю: 13-24 pmol/l (пмоль/л).

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

**Матеріал для дослідження**

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 h (год) при 4-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

**Перелік необхідного устаткування**

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000  $\mu$ l (мкл).  
Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 nm (нм).

**Підготовка реагентів**

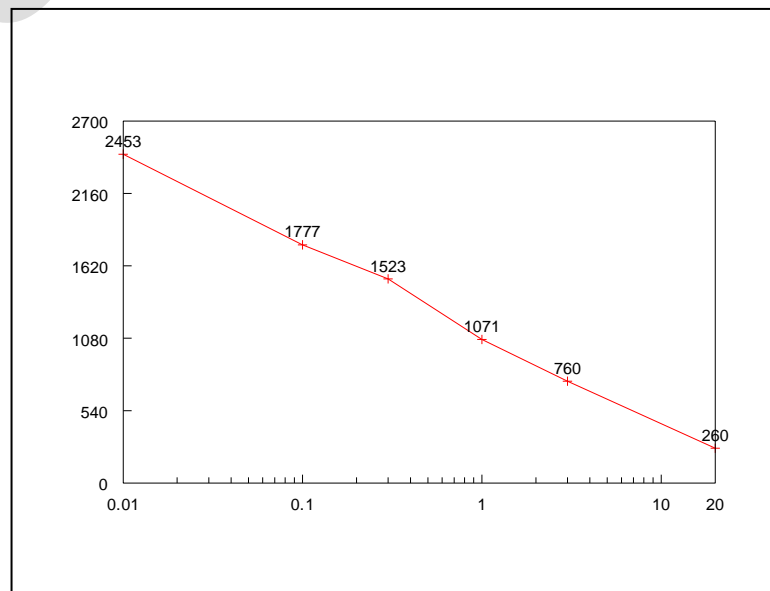
1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 min (хв). До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте у 20 разів дистильованою водою в чистому посуді (1 ml (мл) концентрату + 19 ml (мл) дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 5 d (доб) при кімнатній температурі або 30 d (доб) у холодильнику 4-10°C.

**Проведення аналізу**

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 14 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 25  $\mu$ l (мкл) калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
3. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) кон'югату.
4. Інкубуйте 60 min (хв) при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) субстрату.
7. Інкубуйте **20-25** min (хв) при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на фотометрі при довжині хвилі 450 nm (нм). Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
10. Використовуйте лінійно-логарифмічний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію T4 вільного в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

**Приклад калібрувальної кривої** (вісь X – концентрація, pmol/l (пмоль/л); вісь Y – ОЩ)

Не використовувати для обчислювання!



**Примітки**

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби та стандарти бажано ставити в **двох паралелях (повторах)**.
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250  $\mu$ l (мкл) відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко перегорніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

**Референтні величини**

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Стать, вік	Одиниці pmol/l (пмоль/л)		Додаткові одиниці ng/l (нг/л)	
	Нижня межа	Верхня межа	Нижня межа	Верхня межа
Донори до 60 років	10	25	8	20
> 60 років	10	21	8	16.8
Вагітні 1-й триместр	9	26	7.2	20.8
2-й триместр	6	21	5	16.8
3-й триместр	6	21	5	16.8

Перехід в додаткові одиниці  $1 \text{ pmol/l (пмоль/л)} = 0.8 \text{ ng/l (нг/л)}$ .

**Зберігання та стабільність**

Після розкриття пакета ретельно заклейте лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не допускається замороження!

**Вимоги безпеки та утилізації**

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

**Транспортування**








Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

**Гарантія виробника**

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

**Символи на продукції**

 Виробник	<b>Виготовлено:</b> Дата виробництва	<b>Придатно до:</b> Термін придатності	<b>Серія:</b> Номер
серії  Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання		
 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне	
обмеження  Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів			