

CP	7041/2007
	11.10.2012

Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.

Інструкція
з використання тест-системи
для визначення загального тироксину в сироватці крові
T4 - ІФА
IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

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 загальний 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 нм. Інтенсивність кольорової реакції зворотно пропорційна кількості T4 загального 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 судять про функції щитовидної залози. Велика частина циркулюючого в крові T4 пов'язана з транспортними білками, біологічні ефекти надає вільна частина гормону, 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.

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

Зниження значень загального 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 мл (всього 5 калібраторів: 0, 32, 64, 160, 320 нмоль/л; 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
5. Кон'югат концентрат 2x, 5.5 мл (1 фл.)
6. Буфер для розчинення кон'югату, 5.5 мл (1фл.)
7. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
8. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 13 нмоль/л.

Очікуванні коливання контролю: 60-100 нмоль/л.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°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 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.
3. Підготовка робочого розчину кон'югату: 5.5 мл концентрата кон'югату додайте до 5.5 мл буферу для розчинення кон'югату в співвідношенні 1:1 та ретельно перемішайте. При постановці реакції тільки на частині планшету кількість розчину кон'югату зменшується пропорційно. Робочий розчин кон'югату готують безпосередньо перед використанням!

Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 25 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
3. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте **15-20** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Визначте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на фотометрі при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
10. Використовуйте лінійно-логарифмічний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію T4 загального в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

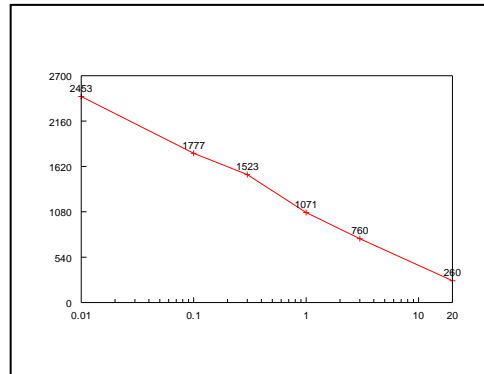
Примітка

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 і стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).

4. **УВАГА!** Інкубацію при температурі 37°C можливо замінити на інкубацію при температурі 20-25°C при постійному струшуванні.

5. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, нмоль/л; вісь Y – ОЩ)
 Не використовувати для обчислювання!



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 нмоль/л		Додаткові одиниці мкг/л	
	Нижня межа	Верхня межа	Нижня межа	Верхня межа
Діти 1-5 років	90	190	70	147
6-10 років	83	170	64	132
>10 років	60	160	47	124
Дорослі	60	160	47	124
Чоловіки >61 року	60	129	47	100
Жінки >61 року	70	135	54	105

Перехід в додаткові одиниці: 1 нмоль/л = 0.8 мкг/л .

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°C. Не допускається замороження!

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, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61050, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт
Тест-система для визначення
загального тироксину в сироватці крові

T 4 - ІФА

IN VITRO

Серія **702**
Дата виготовлення **20.11.2012**
Термін придатності **20.05.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	Чутливість не менш, нмоль/л	13		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, нмоль/л	60-100		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Набір калібраторів та контролю (всього 5 калібраторів: 0, 32, 64, 160, 320 нмоль/л; 1 контроль)	червоний	6 фл. x 0.5 мл	відповідає
2.4	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. x 22 мл	відповідає
2.5	Кон'югат, концентрат 2x	червоний	1 фл. x 5.5 мл	відповідає
2.6	Буфер для розчинення кон'югату	червоний	1 фл. x 5.5 мл	відповідає
2.7	Субстрат	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.8	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002