



- Материал контроля качества

## 6. Предупреждения и меры предосторожности

1. **ВНИМАНИЕ:** Этот комплект содержит человеческий материал. Исходный материал, используемый для производства этого комплекта оказались негативными на HBsAg, ВИЧ-1 / 2 и ВГС по FDA утвержденных методов. Тем не менее, ни один метод не может полностью гарантировать отсутствие этих агентов. Таким образом, все продукты человеческой крови, включая образцы сыворотки, следует считать потенциально заразными. Обработка и утилизация должна быть, как это определено соответствующим руководством национальной безопасности или регулироваться, где оно существует.

2. Не используйте реагенты после истечения срока годности и не смешивать или использовать компоненты из наборов с разными номерами

3. Не использовать реагенты, когда они становятся мутными или подозревается загрязнение.

4. Не использовать реагенты, если флакон поврежден.

5. Замените ограничения на реагенты немедленно. Не меняйте крышки.

6. Каждая скважина может быть использована только один раз.

7. Не ставте реагенты в рот.

8. Растворы, содержащие добавки или консерванты, такие как азид натрия, не должны использоваться в ферментной реакции.

9. Избегать контакта с 1N HCl. Это может вызвать раздражение кожи и ожоги. При попадании, промойте их большим количеством воды и обратитесь к врачу, если раздражение не проходит.

10. Для диагностики In Vitro.

## 7. Стабильность и хранение

1. Реагенты стабильны до даты срока годности, указанной на этикетке при хранении при 2÷8 °С. **Не использовать реагенты после окончания срока годности!**

2. Вскрытые реагенты хранить при температуре 2÷ 8 °С

3. Микротитровальные лунки хранить при 2 ÷8 °С в плотно закрытом пластиковом пакете.

Вскрытый набор стабилен до 4 месяцев при надлежащем хранении

## 8. Измерительные приборы

Микропланшетный ридер с полосой пропускания 10нм и диапазоном оптической плотности от 0 до 2 ОП или выше, возможность при длине волны 450 нм.

## 9. Сбор образцов и подготовка

1. Сыворотка должна приготавливаться из цельного образца крови, полученного принятыми в медицине способами. Данный набор предназначен только для работы с образцами без добавок.

2. Образцы плазмы, собранные в пробирки, содержащие ЭДТА, гепарин или оксалат могут влиять на процедуры испытаний.

3. Закрытый набор должен храниться при 2 – 8 °С, микротитровальная панель в закрытом пакете с влагопоглотителем. Вскрытый набор стабилен в течение срока годности при условии хранения как описано выше.

## 10. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Все реагенты должны иметь комнатную температуру(18 – 25 °С) перед началом исследования

2. Для приготовления рабочего раствора конъюгата, добавить 0,1мл концентрата конъюгата (11X) к 1,0 мл раствора для разведения конъюгата, т. е. разведение 1 : 10, и тщательно перемешать. **Приготовить только количество раствора, необходимое для проведения данного исследования. Конъюгат должен быть использован в течение 24 часов.**

### Замечания по процедуре

1.Руководство Пипетирование: Рекомендуется не более 32 скважин, используемых для каждого анализа. Пипетирование всех стандартов, образцов и контролей должно быть завершено в течение 3 минут. Многоканальные пипетки рекомендуется.

2. Автоматизированная Пипетирование: полная тарелка из 96 скважин может быть использована в каждом анализе. Тем не менее, рекомендуется, чтобы пипетирования всех

# ОБЩИЙ ТИРОКСИН (Т4) НАБОР ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Кат. № : EIA-1781  
Производитель : DRG (Германия)

Методика от 04-2011  
Версия 5.1

**Внимание:** основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке.

## 1. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Для количественного определения Тироксина (Т4) в сыворотке человека. ТЕСТ ПОЛЕЗЕН В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.

## 2. ВСТУПЛЕНИЕ

Тироксин (Т4) – ГОРМОН, СИНТЕЗИРУЕМЫЙ И ХРАНЯЩИЙСЯ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ. ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЕ РАСЩЕПЛЕНИЕ Фолликулярного тироглобулина выпускает Т4 в кровоток. Более 99% Т4 связывается с тремя белками в крови: тироксин-связывающий глобулин (ТСГ) связывает 70 %; тироксин-связывающий пре-альбумин (ТСПА) связывает 20 %; альбумин связывает 10 %. Примерно 0,03 % Т4 в крови находится постоянно в свободном состоянии. Заболевания, поражающие щитовидную железу могут проявиться в виде огромного разнообразия симптомов. ИЗМЕРЕНИЕ Т4 С ПОМОЩЬЮ ИФА - самый надежный и удобный скрининговый тест для определения наличия заболеваний щитовидной железы у пациентов. Повышение уровня обнаружено при гипертиреозе из-за базедовой болезни и из-за болезни Пламмера, а также при остром и подостром тиреоидите. Низкий уровень Т4 связан с конгенитальным гипотериозом, миксидемой, хроническим тиреоидитом (Зоб Хасимото) и с некоторыми генетическими аномалиями.

## 3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

В НАБОРЕ Т4 ИФА вторичное анти-Т4 антитело прикреплено к поверхности микролунок. Измеренное количество сывороток пациентов и постоянное количество Т4, конъюгированного с пероксидазой хрена, добавляются в лунку. Во время инкубации Т4 и конъюгированный Т4 конкурируют между собой за связывание с анти-Т4 антителом на поверхности лунок. После часовой инкубации при комнатной температуре лунки промываются 5 раз водой для удаления несвязавшегося Т4 конъюгата. Затем добавляется раствор ТМБ и инкубируется 20 минут для образования голубого окрашивания. ОБРАЗОВАНИЕ ОКРАШИВАНИЯ ПРЕКРАЩАЕТСЯ ДОБАВЛЕНИЕМ Стоп-раствора. Затем спектрофотометрически измеряется абсорбция при 450 нм. Интенсивность образовавшегося цвета пропорциональна количеству фермента и ОБРАТНО пропорциональна количеству немеченных стандартов Т4, проанализированных ТАКИМ ЖЕ ОБРАЗОМ, ЗАТЕМ СЧИТАЕТСЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ Т4 НЕИЗВЕСТНОГО ОБРАЗЦА.

## 4. РЕАГЕНТЫ

1. Микропланшета с 96-лунами, покрытыми овечьими антителами к Т4
2. Т4 референс-стандарты, по 1,0 мл:  
0, 2, 5, 10, 15 и 25 мкг/дл – 1 набор, готовы к использованию
3. Концентрат ферментного конъюгата(11X), 1,3 мл
4. Раствор для разведения ферментного конъюгата, 13 мл
5. ТМБ Реагент, 11 мл
6. Стоп-раствор, (1n HCl), 11 мл

## 5. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В НАБОР

- Прецизионные микропипетки 25 мкл, 100 мкл, 200 мкл, 1мл.
- Съёмные наконечники для пипеток
- Дистиллированная вода
- Вращательная мешалка
- Абсорбирующая бумага или полотенце
- Графическая бумага
- Ридер для микротитровальных панелей

стандартов, образцов и контролей было завершено в течение 3 минут.

3. Все стандарты, образцы и контроли должны быть запущены одновременно в двух экземплярах, так что все условия тестирования одинаковы.
4. Рекомендуется, чтобы лунки были готовы в течение 15 минут после дополнительного стоп-раствора.

## 11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Установить в держатель необходимое число лунок.
2. Раскапать 25 мкл стандартов, образцов, и контролей в соответствующие лунки.
3. Раскапать 100 мкл приготовленного раствора конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешать в течении 30 секунд.
5. Инкубировать при комнатной температуре (18 – 25 °С) в течение 60 минут.
6. Удалить инкубационную смесь в контейнер для отходов.
7. Тщательно промыть плашку 5 раз дистиллированной или деионизированной водой.
8. Резко постучать лунками по абсорбирующей бумаге или полотенцу, чтобы удалить оставшиеся капли.
9. Распаковать 100 мкл ТМВ реагента в каждую лунку. Тщательно перемешать в течение 5 секунд.
10. Инкубировать при комнатной температуре в темноте в течение 20 минут.
11. Остановить реакцию добавлением 100 мкл 1н HCl в каждую лунку.
12. Тщательно перемешивать в течение 30 секунд.  
Важно убедиться, что голубой цвет полностью сменяется желтым.
13. Считать абсорбцию при 450 нм в течение 15 минут.

## 12. ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Подсчитать средние величины абсорбции для каждого набора референс-стандартов, контролей и образцов.
2. Построить стандартную кривую соотношением средней величины абсорбции, полученной для каждого референс-стандарта, против его концентрации в мкг/дл на линейной миллиметровой бумаге, с абсорбцией на вертикальной (Y) оси и концентрацией на горизонтальной (X) оси.
3. Определите соответствующую концентрацию Т4 в мкг/дл по стандартной кривой. В зависимости от опыта и / или доступности компьютерных возможностей, другие методы обработки данных могут быть использованы.
4. Любые разбавленные образцы должны быть дополнительно распределены на соответствующий коэффициент разбавления.

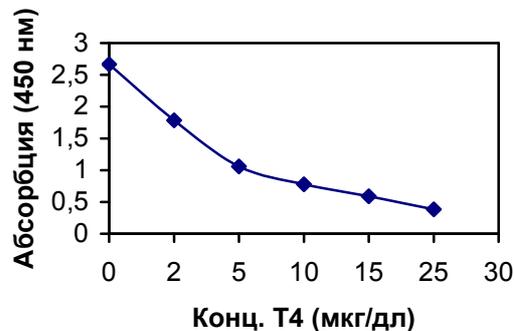
### А. Калибровка анализа

Т4 стандарты откалиброваны против Диагностических продуктов корпорации Т4 Coat-A-Count R1A тест. Точность этой калибровки 100 ± 5%. Таким образом, точность образцов пациентов анализировали с всего Т4 ИФА (EIA-1781) может варьироваться в зависимости от ± 5%

### В. ПРИМЕР СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичной стандартной оптической плотности при 450 нм показаны на оси У ординат против концентрации общего Т4 (мг / дл), указанного на оси X, представлены ниже. **ПРИМЕЧАНИЕ:** Данная стандартная кривая приведена только в целях иллюстрации и не может служить для вычисления неизвестных. Каждая лаборатория должна обеспечивать свои собственные данные и стандартную кривую для каждого анализа. Кроме того, поглощение (450 нм) значений могут изменяться из-за изменение инкубации при комнатной температуре в разных лабораториях.

Т4 (мкг/дл)	Абсорбция (450 нм)
0	2,667
2	1,786
5	1,060
10	0,778
15	0,591
25	0,384



### Ожидаемые значения

Т4 ИФА (EIA-1781) была использована в исследовании из 200 эутиреоидных образцов пациентов (как это определено клиническим анализом лаборатории) в Географическом расположении и дали нормальный диапазон от 5,0 до 13,0 мг/дл. Диапазон определялся из наблюдаемых значений и соответствует в сравнении с предлагаемыми другими коммерческими производителями. Рекомендуется, чтобы лаборатории изменяли значения и отображали на географическом расположении населения.

### Контроль качества

Лабораторная практика требует, чтобы с низким, средним и высоким качеством контрольных образцов (контроля) препарат работает с каждой калибровочной кривой для проверки качества анализа. Для обеспечения надлежащего исполнения, статистически значимое число органов управления должны быть проанализированы, чтобы установить средние значения и приемлемые диапазоны. Управление содержащие азид натрия не должны использоваться.

### Рабочие характеристики

#### С. Точность

статистические исследования с использованием 82 образцов пациентов (диапазон = 1,3 - 24,5 мкг/дл), показали хорошую корреляцию результатов с Abbott's AxSym Total t4 Kit

N = 82

коэффициент корреляции = 0,954

Наклон = 0,914

Перехват = 1,049

EIA-1781 Среднее = 9,9 мкг / дл

Abbott AxSym Среднее = 10,1 мкг / дл

Другое исследование с использованием 107 образцов пациентов (диапазон = 2,2 - 29,7 мкг/дл), показали хорошую корреляцию результатов с Monobind's Total T4 EIA kit, как показано ниже :

N = 107

коэффициент корреляции = 0,978

Наклон = 0,938

Перехват = 0,485

BioCheck Среднее = 10,1 мкг/дл

Monobind Среднее = 10,0 мкг/дл

### Д. Чувствительность

Минимально определяемая концентрация Т4, которая может быть определена данным анализом составляет 0,5 мкг/дл

### Е. Точность

#### 1. Точность внутри анализа

В перспективе определялась с повторного определения трех разных сывороток контроля в 1 анализе.

Сыворотки	1	2	3

Кол-во Репликация	26	26	26
Средний Т4 (мкг / дл)	3,9 5	8,6 5	20, 51
Стандартное отклонение	0,1 7	0,2 7	0,8 0
Коэффициент вариации (%)	4,3 %	3,1 %	3,9 %

## 2. Точность между анализом

Между периодами определялись повторные измерения трех различных образцов сыворотки в нескольких различных анализах.

Сыворотки	1	2	3
Кол-во Репликация	26	26	26
Средний Т4 (мкг / дл)	4,29	8,71	19,0 1
Стандартное отклонение	0,19	0,35	0,45
Коэффициент вариации (%)	4,5%	4,0%	2,4%

## F. Восстановление и линейность исследования

### 1. Восстановление

Различные сыворотки образцов пациентов известного уровня Т4 были объединены и проанализированы в двух экземплярах. Восстановление было 96,7%.

Ожидаемые Концентрация (мкг / дл)	Наблюдаемые Концентрация (мкг / дл)	% Восстановление
19,49	20,06	102,9%
8,36	6,98	83,5%
6,17	6,20	100,5%
4,11	3,58	87,1%
3,36	3,67	109,2%
1,66	1,52	91,6%
	Средние Восстановление #1=	95,8%
21,52	22,04	102,4%
14,85	13,78	92,8%
6,70	6,89	102,8%
1,70	1,56	91,8%

Среднее восстановление # 2 = 97,5%

### 2. Линейность

Два образца были последовательно разбавлены Т3/Т4-free человеческой сыворотки для определения линейности. Восстановление было 98,8%

#	Разведение	Ожидаемые Конц. (мкг / дл)	Наблюдаемые конц (г/дл)	% Ожидаемые
1.	Неразведенный	.....	15,12	.....
	1:2	7,56	7,50	99,2%
	1:4	3,78	3,80	100,5%
	1:8	1,89	1,74	91,9%
			<b>Среднее = 97,2%</b>	
2.	Неразведенный	.....	16,74	.....
	1:2	8,37	8,86	105,7%
	1:4	4,19	4,18	99,8%
	1:8	2,09	1,80	86,0%
			<b>Среднее = 100,4%</b>	

## Специфика

Следующие вещества были проверены на перекрестную реактивность

(См. в оригинале инструкции).

### 13. Ограничения процедуры

1. Надежные и воспроизводимые результаты будут получены при анализе, процедура проводится в лаборатории с хорошей практикой и соблюдение инструкций в листке вкладыше.

2. Результаты, полученные в результате использования этого набора должны использоваться только как дополнение к другим диагностическим процедурам и информации, имеющейся у врача.

3. Образцы сыворотки с T4 концентрациях, превышающих 25 мкг/дл должны быть представлены в качестве таковых. Если в дальнейшем количественного желательна, образец следует разбавить нулевого стандарта и вновь проанализировать. Полученное значение должно быть умножено на фактор разведения для получения истинного значения сыворотки.

4. Желтушный образец со значениями билирубина выше, чем 5 мг/дл не влияет на анализ. Кроме того, добавление гемоглобина уровня до 100 мг / дл не показали никакого эффекта на T4 значение.

5. Значение T4 в сыворотке может зависеть от множества факторов, кроме щитовидной неисправности. Высокий TSH уровень, беременность, терапия эстрогенами, оральные контрацептивы, гепарин, фенитоин и пропранолол могут все результаты считать недействительными.

6. Процедура промывки является критической. Недостаточная промывка приводит к низкой точности и завышенным поглощения чтения.

### **ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:**

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
Тел.: (0342) 775122  
Тел/факс: (0342) 775612  
E-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

### 14. ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).