

**FREE THYROXINE fT4  
СВОБОДЕН ТИРОКСИН****ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕННО ИЗСЛЕДВАНЕ НА  
КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА СВОБОДЕН ТИРОКСИН (fT4) В СЕРУМ.****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Наситеността на получения при реакцията цвят е пропорционална на количеството ензими в пробата и е обратно пропорционална на количеството неозначени fT4. Концентрацията на fT4 в пробата се изчислява в съпоставка с поредица от fT4 стандарти, измерени по същия начин.

**РЕАГЕНТИ**

1. T4 Antibody-Coated Microtiter, 96 Wells
2. Free T4 Enzyme Conjugate Reagent, 10.5 ml готов за употреба
3. Free T4 Reference Standards 1ml всеки, готов за употреба
4. Color Reagent A, 13 ml
5. Color Reagent B, 13 ml
6. Stop Solution (3N HCl), 10 ml.

**СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ**

Трябва да се използва серум, приготвен от пълна кръв, посредством стандартните лабораторни процедури. Тестът може да се използва само със серум, в който няма добавки. Серумните проби могат да се съхраняват в хладилник при 2-8 °C, но не по-дълго от 48 часа. Ако пробите не могат да се изследват в рамките на 48 часа, могат да се съхраняват при -20 °C до 30 дни.

**СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА ТЕСТА**

Неотворените тестове трябва да се съхраняват при 2-8°C в затворената си опаковка с торбички поглъщащи влагата, за да се сведе до минимум излагането на влажен въздух. Отворените тестове остават стабилни до изтичане на срока на годност, ако се съхраняват както е описано по-горе. Тестовите могат да се използват на апарат с ширина на честотната лента 10 nm или по-малка, оптична плътност 0-2 OD или повече при 450 nm дължина на вълната.

**ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ**

Работен Substrate Solution – Пригответе непосредствено преди употреба.  
За да пригответе H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/TMB Solution смесете 1:1 Color Reagent A и Color Reagent B до един час преди употреба. Разбъркайте леко, за да се смесят добре. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/TMB разтвор трябва да се приготви поне 15 минути преди употреба и е стабилен при стайна температура на тъмно до 3 часа. След употреба изхвърлете остатъка.

**ПРОЦЕДУРА**

Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура преди употреба.

1. Поставете желан брой ямки в носача.
2. Пипетирайте 50µl от стандартите, пробите и контролите в съответните ямки.
3. Пипетирайте 100µl Free T4 Enzyme Conjugate Reagent във всяка ямка.
4. Завъртете плаката с ямките леко в продължение на 20-30 секунди.
5. Инкубирайте при стайна температура (18-25 °C) 60 минути.
6. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с ямките в контейнер за отпадъци. Измийте ямките с дестилирана вода 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате ямките. Изсушете ямките върху попираща хартия или салфетка, за да се отстранят останалите капки вода.
7. Добавете 200µl Работен Substrate Solution (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/TMB) във всяка ямка. Винаги добавяйте реагентите в една и съща последователност на ямките. Леко размесете в продължение на 10 секунди
8. Инкубирайте при стайна температура на тъмно 20 минути.
9. Спрете реакцията като добавите 50 µl Stop Solution (3N HCl) във всяка ямка.
10. Леко разбъркайте за 30 секунди. *Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.*
11. Отчетете абсорбцията при 450 nm с ELISA апарат до 30 минути.

**ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

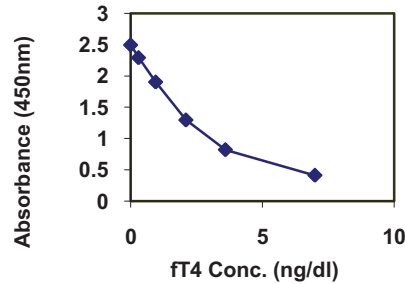
1. Изчислете средната абсорбция (A<sub>450</sub>) за всеки комплект стандарти, контроли и проби на пациенти.
2. Конструирайте стандартна крива въз основа на абсорбцията и концентрацията на всеки референтен стандарт.
3. Използвайте средната стойност на абсорбцията за всяка проба, за да определите съответната концентрация на fT4 в ng/dl от стандартната крива.

**ЗАБЕЛЕЖКА:** За изчисление на резултатите в SI единици: 1ng/dl x 12.9=pmol/L

**ПРИМЕР ЗА СТАНДАРТНА КРИВА**

Дадената като пример стандартна крива може да служи само като илюстрация и не трябва да се използва при изчисление на неизвестни проби. Всяка лаборатория трябва да получи свои собствени данни и стандартна крива.

fT4 (ng/dl)	Абсорбция (450nm)
0	2.797
0.45	2.465
1.2	1.582
2.2	0.934
4.5	0.487
7.2	0.320

**ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ**

Възрастни 0.8 – 2.0 ng/dl.

Бременни 0.76 – 2.24 ng/dl.

Препоръчва се всяка лаборатория да установи свой обхват от очаквани стойности.

**ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА**

1. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с метод прилагаш радиоимунологично изследване даде коефициент на корелация 0.9597 и уравнение на регресията  $y = 0.0582 + 0.9513x$ .
2. Чувствителност: 0.05 ng/dl
3. Точност:

В серия (стойности в ng/dl)

	N	X	S.D.	C.V.
Ниски	20	0.550	0.061	10.98%
Нормални	20	1.740	0.074	4.26%
Високи	20	3.250	0.106	3.25.2%

Между серии (стойности в ng/dl) – измерени десет пъти с дублиране за период от десет дни

	N	X	S.D.	C.V.
Ниски	10	0.480	0.052	10.81%
Нормални	10	1.410	0.085	6.01%
Високи	10	3.490	0.279	7.90%

**КЛИНИЧНО ЗНАЧЕНИЕ**

Промените в концентрациите на серумните свързващи протеини в общия случай водят съответно до промяна на концентрация на общия T4, докато физиологично активното ниво на fT4 остава като цяло непроменено у еутироидните пациенти. Следователно определянето на концентрацията на fT4 може да даде по-точна оценка на тироидния статус, отколкото измерването на общия T4. Повишените концентрации на fT4 са показателни за хипертироидизъм, а ниските нива - за хипотироидизъм.

**ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА**

1. Надежни и възпроизводими резултати ще се получат ако описаната процедура е напълно разбрана и правилно изпълнена.
2. Процедурата с миенето е от критично значение. Недостатъчно доброто измиване ще повлияе на точността и ще доведе до фалшиво високи стойности на абсорбцията.
3. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
4. Резултатите от теста трябва да се използват само като една съставна част от диагностичната процедура, при която лекарят трябва да вземе пред вид цялата налична информация.

Rev:042507

Производител: BioCheck Inc., 323 Vintage Park Drive, Foster City, CA94404, USA  
Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1