



Набор ИФА для определения ТРИЙОДТИРОНИНА (Т3)

Кат. № : 3144Z
Количество : 96
Производитель : DAI (США)

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

Методика проверена 10-10-2009

Анализ	Т3
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Конкурентный ИФА
Диапазон обнаружения	0-10 нг/мл
Образец	50 мкл
Специфичность	96,30 %
Чувствительность	0,2 нг/мл
Общее время	~ 90 мин.
Срок годности	12 мес.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для количественного определения трийодтиронина (Т3) в человеческой сыворотке.

ВВЕДЕНИЕ

Тиреоидная железа является главным компонентом эндокринной системы. Тиреоидные гормоны исполняют множество функций. Они влияют на силу и существенное регуляторное влияние на рост, дифференциацию, клеточной метаболизм и основной гормональный баланс, так же как и на обслуживание метаболической активности и развития скелета и системы органов.

Гормоны тироксин Т4 и 3,5,3' трийодтиронин (Т3) циркулируют в кровяном потоке, в основном связываются с протеинами плазмы, тироксин связанном глобулином (ТВГ). Концентрация Т3 меньше чем Т4, но его метаболическая потенциальность значительно выше.

Определения Т3 – важный фактор при диагнозе тиреоидных болезней. Его измерение имеет раскрытый вариант гипертириозидизма в тиреоидных пациентов с высоким уровнем Т3 и нормальным уровнем Т4. Увеличение Т3 без увеличения Т4 часто предшествует возврату тиреоидоксикоза в предварительно исследованных пациентов. В других пациентов, эутиреоз показывает нормальный Т3 и субнормальный Т4.

Определение Т3 также используется при мониторинге пациентов, исследуемых на гипертириозидизм и пациентов, которые имели прекращающуюся анти-тиреоидную лекарственную терапию. Это также используется для различения эутиреоза и гипертириозидных пациентов.

В женщин, уровень Т3 увеличивается во время беременности, при принятии эстрогенов и гормональной терапии, параллельно ТВГ увеличивается подобно уровням Т4. Также уменьшение ТВГ концентрации уменьшает концентрацию Т3. Эти изменения уровня Т3 не являются реальными показателями тиреоидного статуса.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

В наборе Т3 лунки планшетки покрытые точным количеством антител. Вымеренное количество сыворотки пациента и постоянное количество Т3 конъюгировано с пероксидазой хрена добавляются в лунки. Во время инкубации конъюгированный Т3 и Т3 образцов конкурируют за связывание с иммобилизованными антителами. Через 60 минут инкубации при комнатной температуре лунки промывают водой 5 раз для удаления несвязавшегося конъюгата Т3. В лунки добавляют раствор ТМБ (тетраметилбензидина) и инкубируют 20 минут, в течении которых в лунках развивается голубая окраска. Реакцию останавливают стоп-раствором и измеряют оптическую плотность лунок при 450 нм. Интенсивность окраски пропорциональна количеству присутствующего энзима и обратно-пропорциональна количеству Т3 в пробе. По калибровочной кривой зависимости интенсивности окраски от содержания Т3 в калибровочных пробах вычисляют содержание Т3 в анализируемых образцах.

ХРАНЕНИЕ НАБОРА

1. Набор следует хранить при 2-8°C до окончания срока пригодности.
2. Планшет следует хранить в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности.

ИНСТРУМЕНТАРИЙ

Для измерения абсорбции следует использовать микропланшетный ридер с шириной полосы 10 нм или меньше и оптической плотностью 0-2ОП или выше при длине волны 450 нм.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотку получают из проб цельной крови, взятых подходящим способом. Набор предназначен для работы с образцами сыворотки без примесей.

МАТЕРИАЛЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

1. Планшет с лунками, покрытыми антителами Т3, 96 лунок.
2. Концентрат конъюгата Т3 HRPO, 0,8 мл
3. Разбавитель конъюгата Т3 HRPO, 15 мл.
4. Референтный стандарт, 1 набор, готовы к использованию.
5. ТМБ субстрат, 12 мл
6. Стоп-раствор, 12 мл.
7. Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

1. Дистиллированная вода.
2. Точные пипетки: 0,05 - 0,2мл.
3. Наконечники для пипеток.
4. Микропланшетный ридер
5. Вихревой смеситель или аналог.
6. Промокательная бумага.
7. Бумага для построения графиков.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1. Перед использованием приведите реагенты к комнатной температуре (18-25°C).
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл промывочного буфера (50x) дистиллированной водой, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешать.
3. Для приготовления реагента конъюгата Т3 HRPO, добавьте 0,1 мл концентрата конъюгата Т3 HRPO к 2,0 мл разбавителя конъюгата Т3 HRPO (1:20 разбавление) и тщательно перемешайте. Количество разбавленного конъюгата зависит от объема анализа. Реагент конъюгата стабилен при 4°C по крайней мере две недели.

Примечание: анализ Т3 является чувствительным к температуре. Наилучшими температурными условиями для этого теста являются 19-22°C. Если температура окружающей среды выше, рекомендуется увеличить разбавление конъюгата Т3 до 1:40.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Установите нужное количество лунок с антителами в рамке для стрипов. Сделайте лист данных для идентификации образцов.
2. Внесите 50 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Тщательно перемешайте в течении 10 секунд, затем внесите 100 мкл реагента ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешивайте содержимое лунок в течении 30 секунд. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте при комнатной температуре в течении 60 мин.
6. Удалите инкубационную смесь из планшета.
7. Промыть лунки промывочным буфером (1x) 5 раз.
8. Перевернуть планшет на расстеленный лист промокательной бумаги для удаления остатков жидкости.
9. Внесите 100 мкл раствора ТМБ в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в темноте в течении 20 минут без встряхивания.
11. Остановите реакцию внесением 100 мкл стоп-аствора в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешивайте на протяжении 15 секунд.
Очень важно, что б голубой цвет полностью изменился на желтый.
13. Измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм в течении 15 минут.

РАСЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Рассчитать средние значения поглощения (A_{450}) для каждого стандарта, контрольных сывороток и образцов.

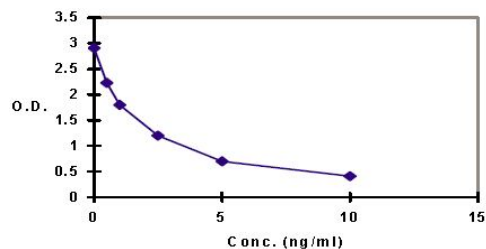
2. Рекомендуется использовать соответствующее обеспечение для вычисления результатов. Если обеспечение не доступно, на бумаге для графиков построить калибровочную кривую, откладывая на вертикальной оси (Y) значение поглощения для каждого стандарта против его концентрации в нг/мл на горизонтальной оси (X).
3. С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию ТЗ в нг/мл.

ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

1. Результаты получают с помощью калибровочной кривой.

ТЗ (нг/мл)	ОП (450 нм)		
	I	II	Среднее
0,0	2,91	2,83	2,87
0,5	2,23	2,22	2,22
1,0	1,80	1,74	1,77
2,5	1,20	1,12	1,16
5,0	0,70	0,66	0,68
10,0	0,41	0,32	0,37

2. Калибровочная кривая: Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации и не должен использоваться для вычисления неизвестных значений. Каждая лаборатория должна обеспечить свои собственные данные и калибровочную кривую.



ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Диапазон нормы: 0,8-2,0 нг/мл

Минимальная концентрация ТЗ, определяемая с помощью этого набора, составляет 0,2 нг/мл.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

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