



Набор для определения ТРИОДТИРОНИНА

T3 EIA KIT

Кат. № : 101-1780
Количество тестов : 96
Производитель : DRG (USA)

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

Методика проверена 04/02/03

НАЗНАЧЕНИЕ

Для количественного определения концентрации трийодтиронина (Т3) в человеческой сыворотке.

ВСТУПЛЕНИЕ

Тиреоидные железы увеличивают 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' трийодотиронин (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 гипертироидизма в тиреоидных пациентов с высоким уровнем Т3 и нормальным уровнем Т4. Увеличение Т3 без увеличения Т4 часто предшествует возврату тироитоксикоза в предварительно исследованных пациентов. В других пациентов, эутиреоз показывает нормальный Т3 и субнормальный Т4.

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

В женщин, уровень Т3 увеличивается во время беременности, при принятии эстрогенов и гормональной терапии. Когда Т3 параллельно ТВГ увеличивается в аналогии к уровню Т4, это не обозначает изменение тиреоидного статуса.

ПРИНЦИП ТЕСТА

В наборе Т3 EIA вторичное антитело (козлий анти-мышинное IgG), привито к микропланшетным лункам. Измеренное количество сыворотки пациента, известное количество мышинного моноклонального

анти-Т3 антитела, и неизменное число Т3, конъюгированное пероксидазой добавляется в лунки. Во время инкубации, мышинное анти-Т3 антитело связывается с вторичным антителом в лунке, Т3 и конъюгированное Т3 конкурирует за ограниченное связанное анти-Т3 антитело. После 60 мин. инкубации при комнатной температуре, лунки промываются 5 раз водой для удаления несвязанного Т3 конъюгата. Потом добавляется раствор ТМВ реагента и инкубируется на 20 мин., в результате развивается голубой окрас. Развития цвета останавливается добавлением Стоп-раствора и абсорбция измеряется спектрофотометром при 450 нм. Интенсивность цвета пропорциональна количеству присутствующего фермента и обратно пропорциональна количеству немаркированных Т3 Стандартов, проанализированных таким же способом, потом вычисляется концентрация Т3 в неизвестном образце.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми козлыными анти-мышинными IgG, 96 лунок.
- Набор Стандартов 0; 0,75; 1,5; 3,0; 5; 6,0 и 10,0 нг/мл, 1,0 мл, готовы к использованию.
- Ферментный Конъюгат Концентрированный (x11), 1,3 мл.
- Разбавитель Ферментного Конъюгата, 13 мл.
- Реактив Антитела, 7 мл.
- ТМВ Реагент (одношаговый), 11 мл.
- Стоп-Раствор (1N HCl), 11 мл.

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Пипетки: 50 мкл, 100 мкл, 1,0 мл.
- Наконечники для пипеток.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель или аналог.
- Фильтровальная бумага или бумажное полотенце.
- Бумага для построения графиков.
- Ридер для планшетов.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

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

ХРАНЕНИЕ НАБОРА

Как невскрытый, так и вскрытый набор следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Вскрытый набор стабилен до окончания срока пригодности при хранении, как описано выше. Микропланшетный ридер с шириной полосы 10 нм или меньше и оптической плотностью в границах 0-2 ОП или больше при длине волны 450 нм подходящий для измерения абсорбции.

ПОДГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-25°C) и перемешайте.
2. Для приготовления Рабочего Реагента Т3 Конъюгата добавьте 0,1 мл Концентрата Т3 Конъюгата к 1,0 мл Разбавителя Т3 Конъюгата и хорошо смешайте.

Примечание: готовьте только нужное количество Конъюгата. Рабочий Реагент Т3 Конъюгата должен быть использован на протяжении 24 часов. Откажитесь от избытка после использования.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок с антителами в рамку для стрипов. Приготовьте лист бумаги для записи идентификации образцов.
2. Внесите 50 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите 50 мкл Реактива Антитела в каждую лунку. Тщательно перемешайте в течении 30 секунд.
4. Внесите 100 мкл Рабочего Реагента Т3 Конъюгата в каждую лунку. Тщательно перемешайте в течении 30 секунд. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-25°C) в течении 60 мин.
6. Удалите содержимое лунок.
7. Промыть лунки дистиллированной 5 раз.
8. Перевернуть планшет и легко постучать им по расстеленному листу фильтровальной бумаги или бумажного полотенца 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 темном месте в течении 20 минут без встряхивания.
11. Остановите реакцию внесением 100 мкл Стоп-Раствора (1N HCl) в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешайте на протяжении 30 секунд. Удостоверьтесь в полном изменении синей окраски на желтую.
13. Измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм на протяжении 15 мин.

РАСЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

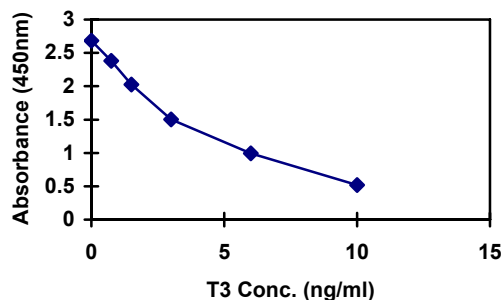
1. Рассчитать средние значения поглощения (A_{450}) для каждого стандарта, контрольных сывороток и образцов.
2. На бумаге для графиков построить калибровочную кривую, откладывая на вертикальной оси (Y) значение поглощения для каждого стандарта против его концентрации в нг/мл на горизонтальной оси (X).
3. С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию Т3 в нг/мл.

ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. Его нельзя использовать для расчета концентраций Т3 в пробах.

T4 (мкг/дл)	Поглощение (450 нм)
0.0	2.685
0.75	2.381
1.5	2.028
3.0	1.502

6.0	0.992
10.0	0.518



ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ.

Диапазон Т3 в здоровых людей составляет **0,6-1,85 нг/мл**. В основном общий уровень Т3 в сыворотке имеет тенденцию быть параллельным к изменению уровня в сыворотке основного связанного протеина, тироксин-связанного глобулина (ТВГ). Рост уровня Т3 отмечено в индивидов с гипертирозидизмом, получившим после замены терапии. Минимальная концентрация Т3, детектируемая с помощью этого набора, составляет 0,2 нг/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Точные и правильные результаты могут быть получены при полном соответствии проведения теста инструкции.
2. Процедура промывания – критична. Не достаточное промывание может дать не точные результаты и завышенную абсорбцию. Не используйте образцы сыворотки высоколипемические, гемолизированные или сильно мутные.
3. Результаты, полученные с помощью этого теста, должны использоваться как дополнение к другим диагностическим процедурам.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Черновола, 97,
 г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: +38 (0342) 77-51-22
 Тел/факс: +38 (0342) 77 56 12
 E-mail: info@diameb.com