



Набор для определения ТИРОКСИНА T4 EIA KIT

Кат. № : 101-1781
Количество тестов : 96
Производитель : DRG (USA)

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

Методика 23/05/05

НАЗНАЧЕНИЕ

L-Тироксин (Т4) это гормон, который синтезируется и хранится в тироидной железе. Дробления расщепляющего белка фолликулярного тироглобулина освобождает Т4 в кровообращение. Более чем 99% Т4 обратно связывается с тремя протеинами плазмы в крови – тироксин связанный глобулин (ТГВ) связывает 70%, тироксин связанный пре-альбумин (ТВА) связывает 20%, альбумин связывает 10%. Около 0.03% Т4 остаются свободным (статус несвязанный) в крови всегда.

Болезни, вызванные тироидной функцией, могут давать множество разных симптомов. Измерение общего Т4 с помощью иммуноанализа наиболее точный и удобный тест, дающий возможность определить присутствие тироидной неупорядочности в пациентов. Рост уровня Т4 обнаружено при гипертиреозидизме во время болезни Grave's и болезни Plummer's и во время острого тиреоидита. Низкий уровень Т4 ассоциируется с врожденным гипотиреозидизме, микседеме, хроническом тиреоидите (болезни Hashimoto) и с некоторыми генетическими аномалиями.

ПРИНЦИП ТЕСТА

В наборе Т4 лунки планшетки покрытые точным количеством антител. Вымеренное количество сыворотки пациента и постоянное количество Т4 конъюгировано с пероксидазой хрена добавляются в лунки. Во время инкубации конъюгированный Т4 и Т4 образцов конкурируют за связывание с иммобилизованными антителами. Через 60 минут инкубации при комнатной температуре лунки промывают водой 5 раз для удаления не связавшегося конъюгата. В лунки добавляют раствор ТМБ (тетраметилбенидина) 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 обратно-пропорциональна количеству Т4 в пробе. По калибровочной кривой зависимости интенсивности окраски от содержания Т4 в калибровочных пробах вычисляют содержание Т4 в анализируемых образцах.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми антителами, 96 лунок.
- Набор Стандартов 0; 2; 5; 10; 15 и 25 мкг/дл, 1 набор, 1,0 мл. Готовые к использованию
- Ферментный Конъюгат Концентрированный (x11), 1,3 мл.
- Разбавитель Ферментного Конъюгата, 13 мл.
- ТМВ Реагент, 11 мл.
- Стоп-Раствор (1N HCl), 11 мл.

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Пипетки: 25 мкл, 100 мкл и 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 не вскрытый, 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 границе 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм подходящий для измерения абсорбции.

ПОДГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1. Перед использованием приведите реагенты до комнатной температуры (18-25°C).
2. Для приготовления Рабочего Реагента Т4 Конъюгата добавьте 0,1 мл Концентрата Т4 Конъюгата к 1,0 мл Разбавителя Т4 Конъюгата и хорошо смешайте.

Примечание: готовьте только нужное количество Конъюгата. Рабочий Реагент Т4 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.
2. Внесите 25 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите 100 мкл Рабочего Реагента Т4 Конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте содержимое лунок 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 или деионизированной водой 5 раз. (Не промывать водой с крана).
8. Перевернуть планшет и легко постучать им по растленному 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.
 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.

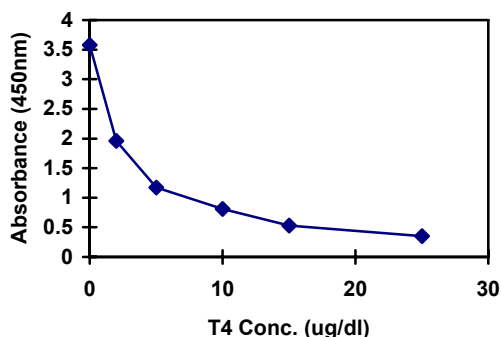
РАСЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 на горизонтальной оси (X).
3. С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию Т4 в мкг/дл.

ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. Его нельзя использовать для расчета концентраций Т4 в пробах.

T4 (мкг/дл)	Поглощение (450 нм)
0	2,667
2	1,786
5	1,060
10	0,778
15	0,591
25	0,384



ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ.

Анализ Т4 был проведен в сыворотках крови 200 эутиреоидных пациентов из одного географического региона. Значения Т4, соответствующие нормальным, составили 4,8 – 12,0 мкг/дл. Эти данные хорошо

согласуются с таковыми, полученными с использованием других коммерческих наборов. Рекомендуется в каждой лаборатории установить собственные значения уровней Т4, соответствующие нормальным в данном регионе. Минимальная концентрация Т4, детектируемая с помощью этого набора, составляет 0,4 мкг/дл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Точные и надежные результаты можно получить только при полном понимании инструкции.
2. Процедура промывания критична. При недостаточном промывании результаты будут не точны и уровень поглощения будет завышен.
3. Результаты, полученные с помощью этого теста должны использоваться как дополнение к другим процедурам диагностики.
4. Образцы сыворотки, что показывают высокую липемичность, гемолиз и мутность не должны использоваться.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
Ул. Чорновола, 97,
г. Ивано-Франковск, 76005
Тел.: (0342) 775 122
Тел/факс: +38 (0342) 775 612
E-mail: info@diameb.com