



Набор для определения ТРИОДОТИРОНИНА T3 EIA KIT

Кат. № : 101-3144
Количество : 96
Производитель : DAI (USA)

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

Методика проверена 06-2003

НАЗНАЧЕНИЕ

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

ВВЕДЕНИЕ

Тироидная железа является главным компонентом эндокринной системы. Тироидные 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' трийодотиронин (Т3) циркулируют в кровяном потоке, в основном связываются с протеинами плазмы, тироксин связан глобулином (ТВГ). Концентрация Т3 меньше чем Т4, но его метаболическая потенциальность значительно выше.

Определения Т3 – важный фактор при диагнозе тироидных болезней. Его измерение имеет раскрытый вариант гипертирозидизма в тироидных 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 гипертирозидизм и пациентов, которые имели прекращающуюся анти-тиреоидную лекарственную терапию. Это также используется для различения эутиреоза и гипертирозидных 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 тироидного статуса.

ПРИНЦИП ТЕСТА

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

- Набор следует хранить при 2-8°C до окончания срока пригодности.
- 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 0-2 ОП 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.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми антителами, 96 лунок.
- Т3 HRPO Конъюгат концентрат, 0,8 мл
- Т3 HRPO Конъюгат разбавитель, 15 мл.
- Набор Стандартов 1 набор, готовы к использованию.
- ТМБ субстрат, 12 мл
- Стоп-Раствор, 12 мл.

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Точные пипетки: 0,05, 0,1 и 0,2мл.
- Наконечники для пипеток.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель или аналог.
- Фильтровальная бумага или бумажное полотенце.
- Бумага для построения графиков.
- Микропланшетный ридер

ПОДГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1. Перед использованием приведите реагенты до комнатной температуры (18-25°C).
 2. Для приготовления реагента Т3 HRPO конъюгата, добавьте 0,1 мл Т3 HRPO конъюгата концентрата к 2,0 мл Т3 HRPO конъюгата разбавителя (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 Т3 конъюгата до 1:40.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок с антителами в рамку 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 энзимного Конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте содержимое лунок в течении 30 секунд. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте при комнатной температуре в течении 60 мин.
6. Удалите содержимое лунок.
7. Промыть лунки дистиллированной водой 5 раз.
8. Перевернуть планшет на растеленный лист фильтровальной бумаги или бумажное полотенце 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 Раствора в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешайте 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 Т3 в нг/мл.

ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации.

Т3 (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

**ОЖИДАЕМЫЕ
ЗНАЧЕНИЯ И
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ**
Нормальные границы:
0,8-1,90 нг/мл
Минимальная концентрация Т3, детектируемая с помощью этого набора, составляет 0,2 нг/мл.

Информация для заказа:

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