

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРОКСИНА Т4

3149-16, T4 ELISA

Каталог. № : 3149-16

Методика от 10-25-2012

Количество : 96

Производитель: **DAI (США)**



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	T4 ELISA
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Конкурентный ИФА
Образец	50 мкл
Специфичность	96,30 %
Чувствительность	0,4 мкг/дл
Общее время	~ 90 мин.
Срок хранения	12-14 мес.

**Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание*

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для количественного определения концентрации тироксина (Т4) в человеческой сыворотке.

ВВЕДЕНИЕ

L-Тироксин (Т4) это гормон, который синтезируется и хранится в тироидной железе. Дробления расщепляющего белка фоликулярного тироглобулина освобождает Т4 в кровоток. Более чем 99% Т4 обратно связывается с тремя протеинами плазмы в крови – тироксин связанный глобулин (ТГВ) связывает 70%, тироксин связанный преальбумин (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, хроничном тиреодите (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 несвязавшегося 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 пропорциональна количеству присутствующего энзима и 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 референтных стандартов, готовы к использованию.
- Разбавитель конъюгата HRPO T4, 15 мл.
- Концентрат конъюгата HRPO T4, 0,8 мл.
- ТМВ субстрат, 12 мл
- Стоп-Раствор, 12 мл.

- Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Точные пипетки: 40 мкл~200 мкл и 1,0 мл.
- Сменные наконечники для пипеток.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель или аналог.
- Промокательная бумага или бумажное полотенце.
- Бумага для построения графиков.
- Микропланшетный считыватель.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

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

ХРАНЕНИЕ НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

1. Невскрытые наборы после получения следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем. Чтобы минимизировать попадание влажного воздуха. Набор анализа может использоваться в течении срока годности (Один год от даты производства). Срок годности указан на этикетке упаковки.
2. Вскрытые наборы остаются стабильными до окончания срока пригодности при хранении согласно инструкции.
3. Подходящим является микропланшетный считыватель с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием приведите реагенты к комнатной температуре (18-22°C).
2. Для приготовления реагента конъюгата Т4 HRPO добавьте 0,1 мл концентрата конъюгата Т4 HRPO к 2,0 мл разбавителя конъюгата Т4 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: набор Т4 чувствительный к перепадам температуры. Лучшие температурные условия для этого анализа – от 19°C до 22°C. Если, условия температуры окружающей среды более высокие чем ожидаемые, мы рекомендуем увеличение разбавления конъюгата Т4 до 1:40.

3. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, Разбавьте 15 мл промывочного буфера (50x) дистиллированной водой, чтобы препарировать 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием тщательно перемешайте.

ПРОЦЕДУРА 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. Внесите 100 мкл Реагента ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте содержимое лунок в течении 10 секунд. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-22°C) в течении 60 мин.
6. Удалите содержимое лунок в контейнер для мусора.
7. Промыть лунки 5 раз промывочным буфером (1x).
8. Резко ударить планшет с лунками по промокательной бумаге или бумажным полотенцам для удаления всех остатков жидкости.
9. Внесите 100 мкл раствора ТМБ в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в течении 20 минут без встряхивания.
11. Остановите реакцию внесением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку. Аккуратно перемешайте на протяжении 5 секунд.
12. Измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм с помощью считывателя.

Важное примечание:

Процедура промывания крайне важна. Неточное промывание приведет к низкой точности и завышенной абсорбции считываний.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Рассчитать средние значения поглощения (A_{450}) для каждого набора референтных стандартов, контрольных сывороток и образцов.
2. Рекомендуется использовать соответствующее ПО 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 мкг/дл на горизонтальной оси (X).
3. С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию T4 в мкг/дл.

ПРИМЕР КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. Его нельзя использовать для расчета концентраций T4 в пробах.

T4 (мкг/дл)	Поглощение (450 нм)
0	3,217
1	2,465
2,5	1,961
5	1,331
15	0,746
30	0,436

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Анализ T4 был проведен в сыворотках крови 200 эутиреоидных пациентов из одного географического региона. **Значения T4, соответствующие нормальным, составили 5,0-13,0 мкг/дл.** Эти данные хорошо согласуются с таковыми, полученными с использованием других коммерческих наборов. Рекомендуется в каждой лаборатории установить собственные значения уровней T4, соответствующие нормальным в данном регионе. Минимальная концентрация T4, детектируемая с помощью этого набора, составляет 0,4 мкг/дл.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com