

**FREE T3
СВОБОДЕН ТРИЙДОТИРОНИН**

ИН ВИТРО ЕНЗИМЕН ИМУНОЛОГИЧЕН ТЕСТ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА СВОБОДЕН ТРИЙДОТИРОНИН (FT3) В СЕРУМ.

ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Наситеността на получения при реакцията цвят е пропорционална на количеството ензими в пробата и е обратно пропорционална на количеството неозначен FT3. Съпоставката с поредица от FT3 стандарти, изследвани по същия начин, позволява да се изчисли концентрацията на FT3 в пробите.

РЕАГЕНТИ

1. FT3 Coated Microtiter Wells
2. FT3 Enzyme Conjugate, 10.5 ml
3. FT3 Reference Standards: 1ml всеки, готови за употреба
4. Color Reagent A, 13 ml
5. Color Reagent B, 13 ml
6. Stop Solution (3N HCl), 10 ml.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Трябва да се използва серум, приготвен от пълна кръв, посредством стандартните лабораторни процедури. Тестът може да се използва само със серум, в който няма добавки. Серумните проби трябва да се съхраняват в хладилник но не по-дълго от 48 часа. За по-дълги периоди на съхранение, съхранявайте пробите при -20°C, но не по-дълго от 30 дни.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА ТЕСТА

Неотворените тестове трябва да се съхраняват при 2-8°C в затворената си опаковка с торбички поглъщащи влагата, за да се сведе до минимум излагането на влажен въздух. Отворените тестове остават стабилни до изтичане на срока на годност, ако се съхраняват както е описано по-горе. Тестовите могат да се използват на апарат с ширина на честотната лента 10 nm или по-малка, оптична плътност 0-2 OD или повече при 450 nm дължина на вълната.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

Работен Substrate Solution – Пригответе непосредствено преди употреба
За да пригответе H₂O₂/TMB Solution смесете 1: 1 Color Reagent A и Color Reagent B до един час преди употреба. Разбъркайте леко, за да се смесят добре. Пригответият H₂O₂/TMB разтвор трябва да е готов поне 15 минути преди употреба и е стабилен при стайна температура на тъмно до 3 часа. След употреба изхвърлете остатъка.

ПРОЦЕДУРА

Всички реагенти трябва да се поставят при стайна температура (18-25 °C) преди употреба.

1. Пригответе ямките за стандартите, контролите и серумите да бъдат тествани с дублиращо отчитане.
2. Пипетирайте 50µl от стандартите, пробите и контролите в съответните ямки.
3. Добавете 100µl от FT3 Enzyme Conjugate във всяка ямка.
4. Завъртете леко плаката 20-30 секунди и покрийте.
5. Инкубирайте при стайна температура (18-25°C) 60 минути.
6. Отстранете инкубационната смес като изпразните плаката с ямките в контейнер за отпадъци. Измийте ямките с дестилирана вода 5 пъти, като преди всеки следващ път изпразвате ямките. Изступайте рязко ямките върху поплаваща хартия или салфетки, за да се отстранят останалите капки вода.
7. Добавете 200µl от разтвора H₂O₂/TMB във всяка ямка. Винаги спазвайте една и съща последователност при пипетиране в ямките.
8. Инкубирайте при стайна температура на тъмно 20 минути.
9. Спрете реакцията като добавите 50µl Stop Solution (3N HCl) във всяка ямка.
10. Леко разбъркайте 30 секунди. Много е важно синият цвят напълно да се превърне в жълт.
11. Отчетете абсорбцията при 450 nm с ELISA апарат до 30 минути.

ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средната абсорбция (A₄₅₀) за всеки комплект стандарти, контроли и проби на пациенти.
2. Конструирайте стандартна крива въз основа на абсорбцията и концентрацията на всеки референтен стандарт.
3. Използвайте средната стойност на абсорбцията за всяка проба, за да определите съответната концентрация на FT3 в pg/ml от стандартната крива.

ПРИМЕР ЗА СТАНДАРТНА КРИВА

Дадената като пример стандартна крива може да служи само като илюстрация и не трябва да се използва при изчисление на неизвестни проби. Всяка лаборатория трябва да получи свои собствени данни и стандартна крива.

FT3 (pg/ml)	Абсорбция (450nm)
0	2.478
1.2	2.202
2.5	1.884
5.0	1.485
8.5	1.117
18.0	0.710

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА ТЕСТА

Възрастни: 1.4 – 4.2 pg/ml.

Бременни: 1.8 – 4.2 pg/ml

Чувствителност на теста: 0.05 pg/ml.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

1. Надеждни и възпроизводими резултати ще се получат ако описаната процедура е напълно разбрана и правилно изпълнена.
2. Процедурата с миенето е от критично значение. Недостатъчно доброто измиване ще повлияе на точността и ще доведе до фалшиво високи стойности на абсорбцията.
3. Серумни проби, които са силно липемични, силно хемолизирани или мътни не трябва да се тестват с тази процедура.
4. Резултатите от теста трябва да се използват само като една съставна част от диагностичната процедура, при която лекарят трябва да вземе пред вид цялата налична информация.

Re:051707

Производител: BioCheck Inc., 323 Vintage Park Drive, Foster City, CA94404, USA

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1