کیت سنجش هورمون Free T4 به روش الایزا

حیطه‌ی کاربرد:

کیت الایزای Free T4 پیشتاز طب برای اندازه‌گیری کمی هورمون تیروکسین آزاد (Free T4) در سرم انسان طراحی شده است. این کیت به عنوان ابزار کمک تشخیص در بررسی عملکرد تیروئید و ارزیابی وضعیت هیپوتیروئیدیسم و هیپرتیروئیدیسم مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج باید همراه با یافته‌های بالینی و سایر روش‌های تشخیصی تفسیر شود و محتوای کیت تنها برای استفاده آزمایشگاهی است.

مقدمه:

هورمون تیروکسین (T4) هورمون عمده و مهم تیروئید در خون می‌باشد و به وسیله پروتئین‌های حامل که اصلی‌ترین آن‌ها TBG می‌باشد انتقال می‌یابد. قسمت عمده T4 در خون متصل به پروتئین‌ها بوده و تنها در حدود ۰/۰۳ درصد آن به شکل آزاد (Free T4) می‌باشد، و در واقع همین شکل آزاد است که دارای فعالیت بیولوژیک بوده و روی سلول‌های هدف مؤثر است. مقدار کل تیروکسین در خون (Total T4) به عنوان یک فاکتور مهم در بررسی وضعیت تیروئید مطرح می‌باشد، اما به علت تغییر غلظت پروتئین‌های حامل در مواردی مثل بارداری، مصرف قرص‌های ضد بارداری، استروژن درمانی و بیماری‌های مرتبط با تیروئید مقدار Total T4 نیز به‌طور کاذب دچار تغییر می‌گردد؛ در حالی که ممکن است تیروئید دارای عملکرد طبیعی باشد. همچنین در بعضی موارد، با وجود عملکرد غیرطبیعی تیروئید (هیپوتیروئیدیسم و هیپرتیروئیدیسم)، تغییرات بوجود آمده در غلظت TBG می‌تواند باعث ثبت نتایج نادرست در سنجش مقدار واقعی Total T4 شود. از این رو، اندازه‌گیری غلظت Free T4 که غیر وابسته به عوامل فوق می‌باشد، وضعیت و عملکرد غدهٔ تیروئید را بهتر نمایان می‌سازد و به علاوه جایگزین بهتری به جای FTI می‌باشد.

اساس آزمایش:

کیت الایزای Free T4 با روش الایزای رقابتی و به کمک آنتی‌بادی مونوکلونال طراحی گردیده است. در این روش چاهک‌ها توسط آنتی‌بادی مونوکلونال که علیه مولکول T4 می‌باشد پوشش (Coating) داده می‌شوند. استانداردها و نمونه بیماران با آنتی‌بادی پوشش داده شده در ته چاهک‌ها مجاور می‌شود و پس ازانکوباسیون، T4 که متصل به آنزیم HRP است به چاهک‌ها اضافه می‌شود. این T4 کونژوگه (T4-HRP) با T4 موجود در نمونه‌ها در اتصال به آنتی بادی‌های کوت شده در چاهک‌ها رقابت می‌کند. بنابراین هر چه مقدار T4 در نمونه بیشتر باشد مقدار T4 کونژوگه کمتری به آنتی‌بادی‌های کوت شده متصل می‌گردد و بالعکس. پس از شستشو، محلول رنگ‌زا که حاوی هیدروژن پراکسید (H_2O_2) وکروموژن است به داخل چاهک‌ها ریخته شده و انکوبه می‌گردد. بعد از انکوباسیون رنگ آبی پدید آمده به صورت معکوس با غلظت T4 موجود در نمونه‌ها متناسب است. برای جلوگیری از فعالیت بیش از اندازه و نامناسب آنزیم، محلول متوقف کننده افزوده می‌گردد که فعالیت آنزیم را مختل کرده و رنگ آبی را به زرد تبدیل می‌نماید که بهترین جذب نوری را در طول موج 450 nm دارد.

محتویات کیت:

۱) پلیت ۹۶ خانه حاوی چاهک‌های پوشش داده شده با آنتی‌بادی ضد T4 (Anti-T4 Coated Plate).
۲) محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate): ویال حاوی محلول T4 کونژوگه شده با آنزیم HRP (آماده مصرف).
۳) سری استاندارد (Standard Set): ۶ ویال استاندارد شامل غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/۸، ۲، ۴ و ۸ نانوگرم بر دسی‌لیتر T4.
۴) محلول اسی بافر (Assay Buffer): ویال حاوی محلول بافری آماده مصرف.
۵) سرم کنترل (Control Serum): ویال حاوی سرم کنترل با غلظت مشخص درج شده بر روی برچسب ویال.
۶) محلول شستشو (Wash Solution): ویال حاوی محلول شستشوی غلیظ (۲۰X). به منظور تهیه محلول شستشوی آماده مصرف مقدار لازم از محلول شستشوی غلیظ را به نسبت ۱:۲۰ با آب مقطر رقیق کنید.
۷) محلول رنگ‌زای یک مرحله‌ای (Chromogen-Substrate): ویال حاوی تترامتیل‌بنزیدین و آب اکسیژنه (آماده مصرف).
۸) محلول متوقف کننده (Stop Solution): ویال حاوی محلول اسید کلریدریک ۱ نرمال.
۹) برچسب مخصوص پلیت.
۱۰) دفترچه راهنمای محصول.

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی‌باشند:

۱) دستگاه الایزا ریدر (ELISA Reader) دارای فیلتر 450 nm (و در صورت امکان 630 nm به عنوان فیلتر مرجع).
۲) سمپلر های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر دقیق.
۳) آب مقطر.

نکات قابل ذکر برای مصرف‌کنندگان:

۱) محتویات این کیت برای مصرف در همین کیت طراحی شده است.
۲) از مخلوط کردن محتویات کیت‌ها با شماره ساخت‌های مختلف جداً خودداری نمایید.
۳) کلیه مواد موجود در کیت که منشاء سرمی دارند از نظر وجود HBs Ag و آنتی‌بادی‌های ضد HCV و HIV کنترل گردیده‌اند و فاقد این عوامل می‌باشند، به‌منظور احتیاط بهتر است کاربرانی که با کیت کار می‌کنند از تماس مستقیم با مواد بپرهیزند.
۴) نمونه بیماران، استانداردها، کنترل‌ها و چاهک‌های استفاده شده، باید به عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند. تمامی محلول‌های واکنش‌گر و معرف‌ها باید مطابق با مقررات ملی دفع پسماندهای عفونی امحا شوند.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم - مهر ۱۴۰۴

شرایط نگهداری:

۱) کیت را در یخچال بین دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمایید.
۲) چاهک‌ها را در کیسه مخصوص پلیت همراه با نم‌گیر نگهداری نمایید.
۳) پایداری محتویات کیت تا پایان مدت انقضای نوشته شده بر روی هر یک از آن‌ها می‌باشد.
۴) محلول شستشوی آماده مصرف که به نسبت ۱:۲۰ با آب مقطر رقیق شده باشد به مدت یک هفته در شرایط ۸– ۲ درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری و مصرف می‌باشد.

جمع آوری و آماده سازی نمونه:

سرم یا پلاسما را می‌توان پس از جدا نمودن از خون استفاده نمود. نمونه را می‌توان به مدت دو روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و یا برای مدت زمان طولانی‌تر (حداکثر ۳۰ روز) در دمای ۲۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری نمود. در ضمن باید از ذوب و انجماد مکرر نمونه پرهیز شود. از نمونه‌های مشکوک به آلودگی میکروبی برای انجام آزمایش استفاده نشود.

توضیحات عمومی:

۱) قبل از شروع مراحل آزمایش تمام مواد و نمونه‌ها را به دمای اتاق برسانید.
۲) بهتر است به محض شروع آزمایش کلیه مراحل بدون توقف انجام پذیرند.
۳) از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه استفاده کنید.
۴) پس از افزودن محلول متوقف‌کننده، جذب نوری چاهک‌ها حداکثر تا نیم ساعت قابل اندازه‌گیری می‌باشد.
۵) برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهک‌ها به صورت کامل صورت گرفته و آخرین قطرات پس از شستشو از چاهک‌ها تخلیه شود.
۶) از مهم‌ترین فاکتورها در حصول نتیجه مطلوب، زمان انکوباسیون مناسب می‌باشد، بنابراین پیشنهاد می‌گردد قبل از شروع آزمایش تمام مواد و محلول‌های مورد نیاز را آماده نموده و درب محلول‌های مورد نیاز را باز کنید، این عمل با کاهش فاصله زمانی بین مراحل سمپلینگ باعث نتایج دقیق‌تر می‌شود.
۷) به دلیل مشابه در بند ۶ بهتر است که حجم انجام تست محدود باشد و زمان ریختن نمونه ها بیش از ۵ دقیقه به طول نیانجامد.
۸) شستشوی صحیح با مقدار مناسب بافر شستشو جهت حصول نتایج قابل اعتماد بسیار ضروری است.

مراحل انجام آزمایش:

۱) تعداد چاهک‌های مورد نظر را انتخاب نموده و سایر چاهک‌ها را به همراه نم‌گیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و درب آن را ببندید.
۲) ۲۵ میکرولیتر از هر استاندارد ، سرم کنترل و نمونه را به داخل هر چاهک بریزید. پیشنهاد می‌گردد استانداردها و نمونه‌ها به صورت دوپلیکیت (Duplicate) استفاده شوند؛ به این معنی که هر استاندارد و نمونه در دو چاهک قرار گیرد و در نهایت از میانگین جذب نوری آن‌ها برای محاسبه نتایج استفاده شود. سپس، ۵۰ میکرولیتر از محلول اسی بافر (Assay Buffer) را به هر چاهک اضافه کنید.
۳) ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیم کونژوگه را به هر چاهک اضافه نمایید (بلافاصله بعد از اسی بافر).
۴) پلیت را برای مدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان دهید تا محتویات چاهک‌ها خوب مخلوط شوند و سپس درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهک‌ها را به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق (۲۸– ۲۲ درجه سانتی‌گراد) انکوبه نمایید.
۵) چاهک‌ها را ۵ بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید (برای شستشو می‌توان از سمپلر ۸ کاناله استفاده نمود، ولی باید مواظب بود که محلول شستشو از یک چاهک به چاهک دیگر وارد نشود، زیرا می‌تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد. در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک‌ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نمایید. در انتهای عملیات شستشو، چاهک‌ها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه یا کاغذ نم‌گیر بکوبید تا قطرات اضافی خارج شوند).
۶) ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگ‌زا (Chromogen Substrate) به هر چاهک اضافه نمایید. چاهک‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه نمایید.
۷) با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (Stop Solution) به هر چاهک ادامه واکنش‌های آنزیمی را متوقف نمایید. برای سنجش جذب نوری هر چاهک از دستگاه الایزا ریدر با فیلتر 450 nm استفاده نمایید (توصیه می‌شود از فیلتر 630 nm به عنوان فیلتر مرجع استفاده گردد).

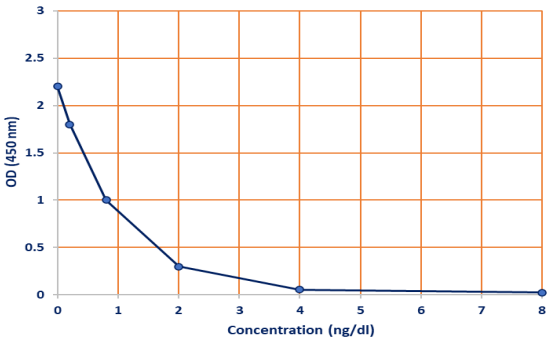
محاسبه نتایج:

از هر دستگاه الایزا ریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج 450 nm می‌توان استفاده نمود.
۱) جذب نوری استانداردها و نمونه‌ها را به کمک دستگاه الایزا ریدر در طول موج 450 nm (و در صورت امکان در مقابل فیلتر مرجع 630 nm) بخوانید.
۲) با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها و غلظت معلوم آن‌ها نموداری (Point to Point) رسم کنید؛ به این صورت که جذب نوری استانداردها را روی محور عمودی (Y) و غلظت آن‌ها را روی محور افقی (X) برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد بدست آورید. سپس نقاط بدست آمده را به یکدیگر وصل نمایید تا منحنی بدست آید.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم - مهر ۱۴۰۴

۳) میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور عمودی جای آن را پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل نمایید، به طوری که این خط بر محور عمودی کاملاً عمود باشد؛ و بعد از محل تلاقی خط و منحنی، خطی عمود بر محور افقی وارد کنید. نقطه تلاقی این خط با محور افقی مقدار غلظت را نشان خواهد داد. (برای این کار می‌توانید از **محاسبه‌گر خودکار پیشتاز طب** در اینجا استفاده کنید.)

جذب نوری	استانداردها (ng/dl)
۲/۲	۰
۱/۸	۰/۲
۱/۰	۰/۸
۰/۳	۲
۰/۰۵۵	۴
۰/۰۲۳	۸



توجه: جذب‌های نوری و منحنی مربوطه فقط به عنوان نمونه می‌باشد و هر آزمایشگاه در هر دفعه انجام آزمایش باید منحنی جدیدی رسم نماید.

مقادیر مورد انتظار:

مقادیر نرمال Free T4 در سرم افراد سالم که توسط تست‌های مکرر به روش الایزا بدست آمده به قرار زیر می‌باشد ولی پیشنهاد می‌گردد که هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی خود را بدست آورد:

محدوده طبیعی (ng/dl)
۰/۷ – ۱/۸

محدودیت روش اندازه‌گیری:

با وجود استفاده از مواد بلاک‌کننده آنتی‌بادی‌های هتروفیل در محلول‌های کیت، به علت وجود آنتی‌بادی‌های هتروفیل با منشاءهای متفاوت در سرم افراد، امکان وجود نتایج کاذب وجود دارد. تفسیر تست‌های عملکرد تیروییدی با نتایج یک تست امکان پذیر نبوده و نتایج این آزمایش باید با نتایج سایر تست‌های تیروییدی به طور همزمان تفسیر شود. در هنگام تفسیر نتایج آزمایش‌های انجام شده با این کیت باید به تداخلات مختلف فیزیولوژیکی مثل مصرف داروهای خاص و سابقه بیماری توجه شود.

شاخص‌های اجرایی:

۱) حداقل مقدار قابل اندازه گیری:

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و منهای سه برابر انحراف معیار (SD) حداقل غلظت Free T4 قابل تشخیص در این کیت 0.1 ng/ml می‌باشد. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP17-A2 انجام شده است.

۲) دقت آزمایش:

آزمایش‌های Intra Assay (هم‌خوانی غلظت مشخص ازیک نمونه در یک سری آزمایش) و Inter Assay (هم‌خوانی غلظت مشخص از یک نمونه در سری آزمایش‌های مختلف) با استفاده از ۳ سرم با غلظت‌های مختلف Free T4 انجام گردید که در جداول ۱ و ۲ آمده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP05-A3 انجام شده است.

جدول ۱- نتایج Intra Assay.

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (ng/dl)	SD	CV (%)
۱	۲۴	۰/۵	۰/۰۳	۶
۲	۲۴	۱/۵	۰/۰۵	۳/۳
۳	۲۴	۷/۴	۰/۲۶	۳/۵

جدول ۲- نتایج Inter Assay.

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (ng/dl)	SD	CV (%)
۱	۱۰	۰/۵۶	۰/۰۴	۷/۱
۲	۱۰	۱/۵۵	۰/۰۶	۳/۹
۳	۱۰	۷/۶۷	۰/۳۵	۴/۶

هر سری آزمایش به‌صورت داپلیکیت انجام شده است.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم - مهر ۱۴۰۴

۳) ریکاوری آزمایش:

مقادیر معلومی از Free T4 به ۴ سرم با غلظت‌های مشخص Free T4 افزوده شد و ریکاوری آن‌ها محاسبه گردید. نتایج مربوطه در جدول ۳ آمده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP34 انجام شده است.

جدول ۳ – نتایج آزمایش ریکاوری.

نمونه	مقدار FreeT4 موجود در سرم (ng/dl)	مقدار افزوده شده Free T4 (ng/dl)	مقدار مورد انتظار (ng/dl)	مقدار بدست آمده (ng/dl)	ریکاوری (%)
۱	۰/۵۳	۰/۲	۰/۳۶	۰/۳۴	۹۵
۱	۰/۵۳	۰/۸	۰/۶۶	۰/۶۵	۹۸
۱	۰/۵۳	۲	۱/۲۶	۱/۱۵	۹۱
۲	۰/۹۵	۰/۲	۰/۵۷	۰/۶	۱۰۵
۲	۰/۹۵	۰/۸	۰/۸۷	۰/۸	۹۲
۲	۰/۹۵	۲	۱/۴۷	۱/۵	۱۰۲
۳	۱/۵	۰/۲	۰/۸۵	۰/۸۳	۹۸
۳	۱/۵	۰/۸	۱/۱۵	۱/۱۹	۱۰۳
۳	۱/۵	۲	۱/۷۵	۱/۸۶	۱۰۶
۴	۳/۱	۰/۲	۱/۶۵	۱/۶	۹۷
۴	۳/۱	۰/۸	۱/۹۵	۱/۸۱	۹۳
۴	۳/۱	۲	۲/۵۵	۲/۵۸	۱۰۱

٤)خطی بودن آزمایش:

با استفاده از استاندارد صفر رقت‌های متوالی از ۳ نمونه سرم با غلظت مشخص از Free T4 تهیه گردید و نتایج بر اساس ضریب رقت محاسبه شده که در جدول ۴ آورده شده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP06-A انجام شده است.

جدول ٤ – بررسی خطی بودن آزمایش.

نمونه	مقدار Free T4 موجود در سرم رقیق نشده (ng/dl)	ریکاوری (٪)			
		رقت ۱:۲	رقت ۱:٤	رقت ۱:۸	رقت ۱:۱٦
۱	۷/۸	۱۰۷	۱۰۳	۱۰۲	۹۸
۲	۶/۵	۹۵	۱۰۱	۹۹	۱۰۷
۳	۳/۴	۹۲	۱۰۹	۹۱	۱۰۴

۵) اختصاصیت آزمایش:

اختصاصیت این آزمایش به کمک سرم‌هایی با غلظت‌های مختلف 3,5-Diiodothyronine، 3,3',5-Triiodothyronine (T3)، 3,3',5'-Triiodothyronine (rT3)، 3, 3', 5-Triiodothyro acetic acid و 3, 3', 5–Triiodothyropropionic acid به منظور بررسی واکنش‌های متقاطع با Free T4 سنجیده شد که نتایج آن در جدول ۵ آمده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP14-A3 انجام شده است.

جدول ۵ – نتایج تست اختصاصیت (واکنش متقاطع).

آنالیت	غلظت (nmol/L)	غلظت ظاهری Free T4 (ng/dl)
3, 5 - Diiodothyronine	۱۰۰۰	<۰/۱
3, 3', 5 – Triiodothyronine (T3)	۱۰۰	<۰/۱
3, 3', 5' - Triiodothyronine (rT3)	۱۰۰	<۰/۱
3, 3', 5 - Triiodothyro acetic acid	۱۰۰	<۰/۱
3, 3', 5 – Triiodothyropropionic acid	۱۰۰	<۰/۱

منابع:

- Norbert W. Tietz Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Ann Clin Biochem. 1997 Nov;34 (Pt 6):579-81. (https://www.amazon.sg/Fundamentals-Clinical-Chemistry-Norbert-Tietz/dp/0721688667)
- Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed. Norbert Tietz, Ed. Saunders, Philadelphia, Pa., 19105. Sept. 1976. xxvi + 1263 pp. (https://doi.org/10.1093/clinchem/23.4.784a)
- S. B. Barker Determination of protein-bound iodine. (https://doi.org/10.1172/jci102416)
- Sati, c., chatter, A.J., Watts, N. in fundamentals of clinical chemistry. Ed, Tietz, N.W. 3rd Edition, pg 586, saunder press phila. 1987.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم - مهر ۱۴۰۴

جدول علائم:

	Use by	تاریخ انقضاء
LOT	Batch code	شماره سری ساخت
SN	Serial number	شماره سریال
	Date of manufacture	تاریخ تولید
REF	Catalogue number	شماره کاتالوگ
	Caution consult accompanying documents	توجه به مدارک همراه
	Manufacturer	تولیدکننده
	Contains sufficient for <n> tests	محتویات برای n تست کافیست
IVD	In vitro diagnostic medical devices	فرآورده تشخیصی
	Temperature limitation	محدوده دمای نگهداری
	Consult instruction for use	کتابچه راهنما
	Biological risks	خطرات زیستی
CONTROL	Control	کنترل
CONTROL -	Negative control	کنترل منفی
CONTROL +	Positive control	کنترل مثبت

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com

روش انجام آزمایش Free T4 به‌صورت شماتیک

چاهک‌های کوت شده با آنتی‌بادی ضد Free T4			
محلول‌ها	استانداردها	سرم کنترل	نمونه
استانداردها	۲۵ میکرولیتر	–	–
سرم کنترل	–	۲۵ میکرولیتر	–
نمونه	–	–	۲۵ میکرولیتر
اسی بافر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر
آنزیم کونژوگه	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر
پلیت را به ملایمت برای مدت **۱۵ثانیه** تکان دهید تا محتویات چاهک‌ها بخوبی مخلوط شوند. ۰سپس دهانه چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. **۶۰ دقیقه** در **دمای اتاق** انکوبه کنید. برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهک‌ها را خالی کنید. طبق دستور شستشو **۵ بار** چاهک‌ها را بشویید.			
محلول رنگ‌زا	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در **تاریکی** انکوبه کنید .			
محلول متوقف کننده	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
جذب نوری چاهک‌ها را با طول موج **450 nm** (و در صورت امکان 630 nm به عنوان فیلتر مرجع) خوانش کنید.			

جدول محتویات کیت

محتویات کیت	فرمت ۴۸ تستی	فرمت ۹۶ تستی	فرمت ۱۹۲ تستی
پلیت Plate	1×48-wells	1×96-wells	2×96-wells
محلول آنزیم کونژوگه Enzyme Conjugate	1×3 ml	1×6 ml	1×12 ml
سری استانداردها Standard Set	St.: 6×0.5 ml	St.0: 1×1 ml Other St.: 5×0.5 ml	St.0: 1×2 ml Other St.: 5×1 ml
سرم کنترل Control Serum	1×0.5 ml	1×1 ml	1×2 ml
محول اسی بافر Assay Buffer	1×3 ml	1×6 ml	1×12 ml
محلول رنگ‌زای یک مرحله‌ای Chromogen - Substrate	1×6 ml	1×12 ml	2×12 ml
محول شستشو Wash Solution	1×25 ml	1×50 ml	2×50 ml
محلول متوقف‌کننده Stop Solution	1×6 ml	1×12 ml	2×12 ml
برچسب مخصوص پلیت Cardboard Sealer	1	1	2
دستورالعمل استفاده Instruction for Use	1	1	1

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش پنجم - مهر ۱۴۰۴