کیت سنجش هورمون T3 به روش الایزا

حیطه‌ی کاربرد:

کیت الایزای T3 پیشتازطب برای اندازه‌گیری کمی هورمون تری‌یودوتیرونین (T3) در سرم انسان طراحی شده است. این کیت به عنوان یک ابزار کمک تشخیص در بررسی و ارزیابی اختلالات عملکرد تیروئید، به ویژه هیپرتیروئیدیسم، مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج این کیت باید همراه با یافته‌های بالینی و سایر روش‌های تشخیصی تفسیر شود. محتوای این کیت تنها برای استفاده آزمایشگاهی است.

مقدمه:

T3 همانند T4 در غده تیروئید ساخته می‌شود، البته فقط ۲۰ درصد T3 موجود در خون در تیروئید ساخته می‌شود و ۸۰ درصد دیگر از تجزیه T4 در بافت‌ها ساخته می‌شود. قابل ذکر است که مقدار آزاد این هورمون نیز در خون بسیار کم بوده (۰/۳ درصد) که می‌تواند به داخل بافت‌ها وارد شده و اثر خود را اعمال کند و بقیه این هورمون به صورت متصل با پروتئین‌هاست که اصلی‌ترین این پروتئین‌ها، گلوبولین متصل شونده به تیروکسین (TBG) و آلبومین می‌باشند. T3 در سوخت و ساز سلولی بسیار موثر بوده و در رشد بدن و همچنین رشد و تمایز اعضاء جنسی نقش اساسی دارد. اندازه‌گیری Total T3 یک فاکتور مهم در بررسی اختلالات تیروئید بخصوص در هیپرتیروئیدیسم به شمار می‌رود. تقریباً در ۵ تا ۱۰ درصد افراد مبتلا به هیپرتیروئیدیسم، تیتر T3 فاکتور بسیار ارزشمندی در بررسی عملکرد تیروئید نسبت به سایر آزمایشات می‌باشد. کیت حاضر قابلیت اندازه‌گیری و تیتراسیون هورمون T3 را با اختصاصیت و حساسیت بسیار بالا دارا می‌باشد.

اساس آزمایش:

کیت الایزای T3 به روش الایزای رقابتی و به کمک آنتی‌بادی مونوکلونال طراحی گردیده است. در این روش چاهک‌ها توسط آنتی‌بادی مونوکلونال که بر علیه مولکول T3 می‌باشد پوشش (Coating) داده می‌شوند. استانداردها و نمونه بیماران با آنتی‌بادی پوشش داده شده در ته چاهک‌ها مجاور می‌شوند و پس ازانکوباسیون، T3 که متصل به آنزیم HRP است به چاهک‌ها اضافه می‌شود. این T3 کونژوگه (T3-HRP) با T3 نمونه‌ها در اتصال به آنتی‌بادی‌های کوت شده در چاهک‌ها رقابت می‌کند. بنابراین هر چه مقدار T3 در نمونه بیشتر باشد مقدار T3 کونژوگه کمتری به آنتی‌بادی‌های کوت شده متصل می‌گردد و بالعکس. پس از شستشو، محلول رنگ‌زا که محتوی هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و کروموژن است به داخل چاهک‌ها ریخته شده و انکوبه می‌گردد. پس از انکوباسیون رنگ آبی پدید آمده به‌صورت معکوس با غلظت T3 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 T3 (Anti-T3 Coated Plate).
۲) محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate): ویال حاوی محلول T3 کونژوگه شده با آنزیم HRP (آماده مصرف).
۳) سری استاندارد (Standard Set): ۶ ویال استاندارد شامل غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر از T3.
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 بر چسب ویال.
۶) محلول شستشو (Wash Solution): ویال حاوی محلول شستشوی غلیظ (20X). 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): حاوی 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 رفرانس).
۲) سمپلرهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتری دقیق.
۳) آب مقطر.

نکات قابل ذکر برای مصرف‌کنندگان:

۱) محتویات این کیت فقط برای مصرف در همین کیت می‌باشد.
۲) از مخلوط کردن محتویات کیت‌ها با شماره ساخت‌های مختلف جداً خوداری 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. برای احتیاط بهتر است کاربرانی که با کیت کار می‌کنند از تماس مستقیم با مواد بپرهیزند.
۴) نمونه بیماران، استانداردها، کنترل‌ها وچاهک‌های 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 هفتم – شهریور 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 ۲ تا ۸ 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 می‌تواند برای مدت دو روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و یا برای مدت طولانی‌تر (حداکثر تا ۳۰ روز) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. در ضمن باید از ذوب و انجماد نمودن 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 شوند.
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 نمونه‌ها 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) مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر استاندارد، سرم کنترل و نمونه را در هر چاهک بریزید. توصیه می‌شود 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) پلیت را برای مدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان دهید تا محتویات چاهک‌ها خوب مخلوط شوند. سپس درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهک‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی انکوبه نمایید.
۴) مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیم کونژوگه را به هر چاهک اضافه نمایید.
۵) پلیت را برای مدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان دهید تا محتویات چاهک‌ها خوب مخلوط شوند. سپس درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهک‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی انکوبه نمایید.
۶) محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و 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).
۷) ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگ‌زا (Chromogen-Substrate) به هر چاهک اضافه نمایید.
۸) چاهک‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی انکوبه نمایید.
۹) 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:

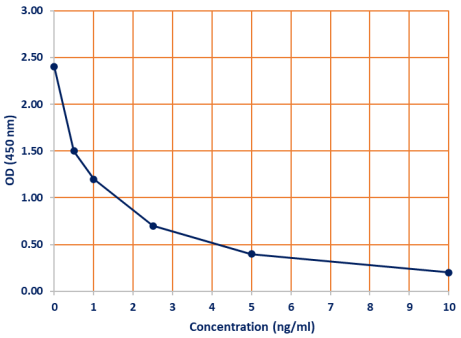
از هر دستگاه الایزا ریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج 450 nm می‌توان استفاده نمود.

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 هفتم – شهریور 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** استفاده کنید.)

جذب نوری	استانداردها (ng/ml)
۲/۴	۰
۱/۵	۰/۵
۱/۲	۱
۰/۷	۲/۵
۰/۴	۵
۰/۲	۱۰



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 T3 در سرم افراد سالم که به توسط تست‌های مکرر به روش الایزا بدست آمده به قرار زیر می‌باشد ولی پیشنهاد می‌گردد که هر آزمایشگاه مقادیر نرمال خود را بدست آورد:

میانگین محدوده طبیعی ng/ml	محدوده طبیعی ng/ml
۱/۴	۰/۶ - ۲/۱

ng/ml × 100 = ng/dl
ng/ml × 1.536 = nmol/L
nmol/L × 0.651 = ng/ml

محدودیت‌های کیت T3:

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 اندازه‌گیری:

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و منهای سه برابر انحراف معیار (SD) حداقل غلظت T3 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 از یک 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 T3 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/ml)	SD	CV%
۱	۲۴	۰/۵۳	۰/۰۲	۳/۸
۲	۲۴	۱/۶۳	۰/۰۵	۳/۱
۳	۲۴	۵/۴۵	۰/۱۷	۳/۱

جدول ۲ - نتایج Inter Assay.

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (ng/ml)	SD	CV%
۱	۱۰	۰/۵۷	۰/۰۵	۸/۸
۲	۱۰	۱/۶۶	۰/۰۶	۳/۶
۳	۱۰	۵/۶۵	۰/۲۸	۴/۹

* هر سری آزمایش به صورت 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 هفتم – شهریور ۱۴۰۴

۳) ریکاوری آزمایش:

مقادیر معلومی از T3 به ۴ نمونه سرم با غلظت‌های مشخص T3 افزوده شده و ریکاوری آن‌ها محاسبه گردید که نتایج آن در جدول ۳ آمده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP34 انجام شده است.

جدول ۳ – نتایج ریکاوری آزمایش.

نمونه	مقدار T3 موجود در نمونه (ng/ml)	مقدار افزوده شده T3 (ng/ml)	مقدار مورد انتظار (ng/ml)	مقدار بدست آمده (ng/ml)	ریکاوری (%)
۱	۰/۶	۱	۰/۸	۰/۸	۱۰۰
۱	۰/۶	۵	۲/۸	۲/۶	۹۳
۱	۰/۶	۱۰	۵/۳	۵/۱	۹۶
۲	۱/۶	۱	۱/۳	۱/۴	۱۰۷
۲	۱/۶	۵	۳/۳	۳/۱	۹۴
۲	۱/۶	۱۰	۵/۸	۶/۳	۱۰۹
۳	۲/۴	۱	۱/۷	۱/۵۵	۹۱
۳	۲/۴	۵	۳/۷	۴/۱	۱۱۱
۳	۲/۴	۱۰	۶/۲	۵/۷	۹۲
۴	۳/۸	۱	۲/۴	۲/۶	۱۰۸
۴	۳/۸	۵	۴/۴	۴/۱	۹۳
۴	۳/۸	۱۰	۶/۹	۶/۵	۹۴

٤) خطی بودن آزمایش:

با استفاده از استاندارد صفر، رقت‌های متوالی از ۴ نمونه سرم با غلظت مشخص از T3 تهیه گردید و نتایج بر اساس ضریب رقت محاسبه شد که در جدول ۴ نتایج آن آورده شده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP06-A انجام شده است.

جدول ٤ – نتایج بررسی خطی بودن آزمایش.

نمونه	مقدار T3 موجود در سرم رقیق نشده (ng/ml)	ریکاوری (٪) رقت ۱:۲	رقت ۱:٤	رقت ۱:۸	رقت ۱:١٦
۱	۱/۴	۱۰۳	۹۷	۱۰۸	–
۲	۲/۹	۹۲	۹۵	۱۰۹	۱۰۱
۳	۴/۸	۱۰۰	۱۱۱	۸۹	۸۷
۴	۷/۸	۱۰۰	۱۰۵	۱۰۹	۱۱۱

٥) اختصاصیت آزمایش:

اختصاصیت این آزمایش به کمک سرم‌هایی با غلظت‌های مختلف L-thyroxine، Diiodotyrosine، Diiodothyronine، Iodotyrosine، Phenylbutazone و Sodium Salicylate به منظور بررسی واکنش‌های متقاطع با T3 بررسی شد که نتایج آن در جدول ۵ آمده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP14-A3 انجام شده است.

جدول ٥ – نتایج تست اختصاصیت (واکنش متقاطع).

آنالیت	غلظت (µg/ml)	غلظت ظاهری T3 (ng/ml)
Iodotyrosine	۱۰	<۰/۱
Phenylbutazone	۱۰	<۰/۱
Sodium Salicylate	۱۰	<۰/۱
Diiodothyronine	۱۰	<۰/۱
Diiodotyrosine	۱۰	<۰/۱
L-thyroxine	۱۰	<۰/۱

منابع:

- Barker, S.B., "Determination of Protein Bound Iodine." Journal of Biological Chemistry, 173, 175, (1948). (DOI: 10.1093/ajcp/24.4_ts.483)
- Chopra IJ. A radioimmunoassay for measurement of 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T3). J Clin Invest. 197 Sep;54(3):583-92. doi: 10.1172/JCI107795. PMID: 4211761; PMCID: PMC301591. (DOI: 10.1172/JCI107795)
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Ann Clin Biochem. 1997 Nov;34 (Pt 6):579-81. (Doi: 10.1177/000456329703400601.)
- Sterling, L., Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland CRC Press, P. 19-51 (1975). (Sterling, L., Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland CRC Press, P. 19-51 (1975).)

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

CE

جدول علائم:

	Use by	تاریخ انقضاء
	Batch code	شماره سری ساخت
	Serial number	شماره سریال
	Date of manufacture	تاریخ تولید
	Catalogue number	شماره کاتالوگ
	Caution: consult accompanying documents	توجه به مدارک همراه
	Manufacturer	تولیدکننده
	Contains sufficient for <n> tests	محتویات برای n تست کافیست
	In vitro diagnostic medical devices	فرآورده تشخیصی
	Temperature limitation	محدوده دمای نگهداری
	Consult instructions for use	کتابچه راهنما
	Biological risks	خطرات زیستی
	Control	کنترل
	Negative control	کنترل منفی
	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
ویرایش هفتم – شهریور ۱۴۰۴

روش انجام آزمایش T3 به صورت شماتیک

چاهک‌های کوت شده با آنتی‌بادی به منظور تست T3			
محلول‌ها	استانداردها	سرم کنترل	نمونه
استانداردها	۵۰ میکرولیتر	–	–
سرم کنترل	–	۵۰ میکرولیتر	–
نمونه	–	–	۵۰ میکرولیتر
اسی بافر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر
پلیت را به ملایمت برای مدت **۱۵ ثانیه** تکان دهید تا محتویات چاهک‌ها بخوبی مخلوط شوند و سپس دهانه چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. **۳۰ دقیقه** در **دمای اتاق** و در **تاریکی** انکوبه کنید.			
آنزیم کونژوگه	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر
پلیت را به ملایمت برای مدت **۱۵ ثانیه** تکان دهید تا محتویات چاهک‌ها بخوبی مخلوط شوند و سپس دهانه چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. **۳۰ دقیقه** در **دمای اتاق** و در **تاریکی** 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 میکر×۱ولیتر
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.:6×1ml	St.:6×2 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
محلول 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 هفتم – شهریور ۱۴۰۴