



## نام کیت: ویتامین D

نوع نمونه: سرم ، پلاسما ( EDTA ، سیتراته و هپارینه)

## آماده سازی اولیه کیت:

1- محلول Biotin را به نسبت 1/100 با محلول Sample buffer رقت می دهیم (محلول کار).

مثال: 1ml Biotin + 99ML buffer

2- استانداردها و کنترلها ونمونه های بیماران را به نسبت 1/26 با محلول کار رقت می دهیم.

مثال: محلول کار 20λ Sample / St / Cont + 500 λ

3- محلول Wash را به نسبت 1/10 با آب مقطر رقت می دهیم.

## روش انجام تست:

1- 200λ از کالیبراتور ، کنترل و نمونه که رقیق شده اند ، را به هر یک از ولها اضافه کرده و به مدت 120 دقیقه در دمای اتاق (+18°C to +25°C) قرار می دهیم.

2- بعد از زمان طی شده ، ولها را با 300μL محلول Wash رقیق شده ، 3 بار شستشو می دهیم. در پایان هر مرحله ، محلول را به مدت 30 تا 60 ثانیه درون ولها قرار داده ، سپس با کاغذ خشک کن قطرات اضافی را خارج می کنیم.

3- 100λ از محلول Enzyme Conjugate آماده مصرف ، به هر یک از ولها اضافه کرده و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق قرار می دهیم.

4- بعد از زمان طی شده 3 بار با محلول Wash رقیق شده ، شستشو می دهیم.

5- 100λ محلول Substrate (TMB) را به هر یک از ولها اضافه کرده و مدت 15 دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه می نماییم.

6- 100λ محلول Stop را به هر یک از ولها اضافه می کنیم و سپس شدت رنگ حاصله را توسط الیزا ریدر در طول موج 450nm و طول موج مرجع بین 620-650 nm و در کمتر از 30 دقیقه می خوانیم.

## نکات مهم:

1- نیم ساعت قبل از شروع آزمایش، کیت را از یخچال بیرون آورده تا به دمای محیط برسد.

2- OD استانداردها و مقادیر کنترلها در تک برگه Certificate و رنج نرمال جوابها در صفحه 7 بروشور نوشته شده است.

3- بهتر است کلیه محلولهایی که نیاز به رقیق سازی دارند به اندازه مصرف روزانه تهیه گردند.