

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА

3122-16, TSH

Каталог. № : 3122-16

Методика от 09-30-2013

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.

Анализ	TSH ELISA
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Сэндвич-комплекс
Диапазон обнаружения	0-20 мкЕд/мл
Образец	50 мкл сыворотки
Специфичность	100 %
Чувствительность	0.20 мкЕд/мл
Общее время	~ 80 мин.
Срок годности	12-14 месяцев от даты производства

НАЗНАЧЕНИЕ

Для количественного определения концентрации тиреотропного гормона (ТТГ) в человеческой сыворотке.

ВВЕДЕНИЕ

Определение сывороточных или плазменных уровней тиреотропного гормона (ТТГ) признано как чувствительный метод в диагностике первичного и вторичного гипотиреоза. ТТГ выделяется передней долей гипофиза и стимулирует производство и выпуск тироксина и трийодтиронина щитовидной железы. Это - гликопротеид с молекулярной массой приблизительно 28,000 daltons, состоит из двух химически различных подгрупп альфы и беты. Хотя концентрация ТТГ в крови чрезвычайно низка, это достаточно для обслуживания нормальной функции щитовидной железы. Выпуск ТТГ регулируется ТТГ-Рилизинг Гормоном (ТРГ), произведенным гипоталамусом. Уровни ТТГ и ТРГ обратно пропорционально связаны с уровнем гормонов щитовидной железы. Когда имеется высокий уровень гормонов щитовидной железы в крови, меньшее количество ТРГ выпускается гипоталамусом, так что меньшее количество ТТГ выделяется гипофизом. Противоположное действие произойдет, когда имеется уменьшение гормонов щитовидной железы в крови. Этот процесс известен как механизм отрицательной обратной связи и ответствен за поддержание надлежащих уровней этих гормонов в крови. ТТГ и гликопротеиды гипофиза: (лютеинизирующий гормон (ЛГ), фолликулстимулирующий гормон (ФСГ), и человеческий хорионический гонадотропин (ХГ)), имеют идентичные альфа-цепи. Бета-цепь отлична, но содержит идентичные последовательности аминокислоты, которые могут причинять значительную взаимную реактивность с некоторым многоклеточным ТТГ-антисыворотками. Использованное моноклональное антитело в этом ТТГ наборе предотвращает эту реактивность, которая могла приводить к ложно завышенным значениям ТТГ в менопаузе или у беременных женщин - для которых оценка статуса щитовидной железы клинически важна.

ПРИНЦИП

Этот ТТГ набор основан на принципе твердофазного иммуноферментного анализа. В нем используется уникальное моноклональное антитело, направленное против дистинктной антигенной детерминанты на неповрежденной ТТГ молекуле. Мышь моноклональное анти-ТТГ антитело используется для иммобилизации твердой фазы (лунок на микротитровальном планшете). Козьи анти-ТТГ антитело находится в растворе ферментного конъюгата. Образец для испытаний реагирует одновременно с этими двумя антителами, в результате чего молекулы ТТГ находятся в «сэндвиче» между твердой фазой и фермент-связанными антителами. После 60 минут инкубации при комнатной температуре лунки промываются водой, для удаления несвязанных меченых антител. Добавляется раствор ТМБ и инкубируется в течение 20 минут, что приводит к развитию синего цвета. Цветное развитие останавливается добавлением стоп

раствора с образованием желтого цвета и проводится измерение на спектрофотометре при длине волны 450 нм. Концентрация ТТГ прямо пропорциональна цветной интенсивности образца.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

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

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Материалы, входящие в состав набора:

1. Планшет с лунками, покрытыми антителом, 96 лунок.
2. Набор референтных стандартов 0; 0,5; 2,0; 5,0; 10,0 и 20,0 мкМЕд/мл, жидкие, готовые к использованию.
3. Ферментный конъюгат, 12 мл.
4. ТМБ субстрат, 12 мл
5. Стоп раствор, 12 мл.
6. Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.
7. Набор контролей (опционно) X1.

Материалы, не входящие в состав поставки:

1. Точные пипетки: 40~200 мкл, 1,0 мл.
2. Одноразовые наконечники для пипеток.
3. Дистиллированная вода.
4. Вихревой смеситель или аналог.
5. Промокательная бумага или бумажное полотенце.
6. Бумага для построения графиков.
7. Микротитровальный планшетный считыватель.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-22° C).
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) в дистиллированной воде, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок в рамку для стрипов.
2. Внесите 50 мкл стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите 100 мкл раствора ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте содержимое лунок в течении 30 секунд. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-25° C) в течении 60 мин.
6. Удалите содержимое лунок.
7. Промойте лунки 5 раз промывочным буфером (1x).
8. Перевернуть планшет и легко постучать им по расстеленному листу фильтровальной бумаги или бумажного полотенца для удаления 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.
11. Остановите реакцию внесением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешайте на протяжении 30 секунд. Удостоверьтесь в полном изменении синей окраски на желтую.
13. Измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм.

Важное замечание:

Процедура промывания критична. Недостаточное промывание приведет к завышенной абсорбции и неточным результатам.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контроля и образцов. Используя линейную или полулогарифмическую бумагу, отметьте точки значений поглощения стандартов в мкМЕ/мл на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации ТТГ в мкМЕд/мл из стандартной кривой.

Пример построения калибровочной кривой

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

ТТГ (мкМЕд/мл)	Поглощение (450 нм)
0	0,011
0,5	0,133
2	0,385
5	0,937
10	1,557
20	2,744

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Средние значения ТТГ, основанные на 160 случайных нормальных пробах крови взрослых, составляет 1.6 (диапазон нормы: 0.4-7.0) мкМЕд/мл.

Минимальная обнаруживаемая концентрация ТТГ этим набором является 0.2 мкМЕд/мл.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

I. **Достоверность:** сравнение между нашим тестом и коммерчески доступным тестом предоставило следующие данные:

N = 179
 Коэффициент корреляции = 0.98
 Наклон = 0.886
 Пересечение = -0.08
 Среднее (наши наборы) = 3.56
 Среднее (Abbott) = 3.07

II. Точность:

1) Внутрисерийная:

Концентрации	N	Среднее	SD	CV, %
Уровень 1	20	1.5	0.09	5.7
Уровень 2	20	15.48	0.38	2.4
Уровень 3	20	26.13	0.90	3.5

2) Между сериями:

Концентрации	N	Среднее	SD	CV, %
Уровень 1	20	1.46	0.10	7.1
Уровень 2	20	15.39	0.92	6.0
Уровень 3	20	25.29	1.75	6.9

III. Линейность:

Две сыворотки пациента с серийно развели Стандарт 0 мкМЕд/мл в линейном исследовании. Среднее восстановление составило 94.4 %.

Образец			
Разведение	Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
Неразбавленный	48.39	48.39	
2X	24.42	22.43	91.9
4X	11.21	10.45	93.2
8X	5.60	5.13	91.6
16X	2.80	2.87	102.5
32X	1.40	1.30	92.9
Среднее восстановление: 94.4 %			

IV. Восстановление

Различные образцы сыворотки с известным уровнем TSH смешивались и анализировались в дубликатах. Среднее восстановление составило 98.9 %.

Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
1.48	1.39	93.9
2.76	3.04	110.1
5.46	5.53	101.3
11.76	11.01	93.6
23.94	22.92	95.7
Среднее восстановление: 98.9 %		

V. Чувствительность

Чувствительность определяли как концентрацию ТТГ, соответствующую поглощению, которое на два стандартных отклонения больше среднего поглощения 20 повторов нулевого калибратора. Минимальная определяемая концентрация этого анализа оценивается в 0,2 мкМЕд/мл.

VI. Перекрестная реактивность

Следующие материалы человеческого происхождения были проанализированы, чтобы определить возможные реактивности.

Antigens	Concentration	Equivalent TSH
HCG	200,000 mIU/ml	0 µIU/ml
FSH	200 mIU/ml	0 µIU/ml
HGH	200 ng/ml	0 µIU/ml
Prolactin	200 ng/ml	0 µIU/ml
LH	300 mIU/ml	0 µIU/ml

VII. Хук-эффект

Хук-эффект не наблюдался при концентрациях 1.000 мкМЕд/мл HGH.

ХРАНИЕНИЕ

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.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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