

НАБОР ИФА

ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ТИРЕОГЛОБУЛИНУ В СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ

EIA-3708, Anti TG Ab ELISA

Каталог. № : **EIA-3708**
Количество : **96**
Производитель: **DRG (Германия)**

Методика от **11-2015**
Версия **5.0**



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Данный тест предназначен для количественного определения антител класса IgG к тиреоглобулину в сыворотке или плазме человека методом твердофазного иммуноанализа. Только для использования in-Vitro диагностике.

2. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Данный набор представляет собой иммуносорбентный анализ с ферментной меткой (ELISA). Он разработан для количественного определения IgG аутоантител к Тиреоглобулину (ТГ).

Анализ основан на микротитровальной панели, покрытой антигенами высокой степени очистки. Она состоит из 12 стрипов по 8 лунок каждый. Связывание анализата, формирование комплексов «сандвич» и ферментная цветовая реакция имеют место на трех этапах анализа.

Иммунная реакция начинается с пипетирования калибраторов, контролей и разведенных образцов пациента в лунки на микротитровальной панели. Антитела связываются с внутренней поверхностью лунки. После 30-ти минутной инкубации панель промывается промывочным раствором для удаления не реагирующих компонентов сыворотки. В лунки пипетируется раствор конъюгата, распознающий аутоантитела, связанные с иммобилизованными антигенами. После 15 минут инкубации излишки конъюгата вымываются. Хромогенный субстрат, содержащий ТМБ (3,3',5,5'-тетраметил-бензидин) раскапывается в лунки. Во время 15 минут инкубации цвет раствора меняется на голубой. Развитие цвета останавливается 1 М соляной кислоты в качестве останавливающего раствора. Цвет раствора меняется на желтый.

Интенсивность цвета прямо пропорциональна концентрации IgG в образце. Оптическая плотность для каждого калибратора графически изображается против концентрации IgG и неизвестные экстраполируются по полученной стандартной кривой.

Для считывания оптической плотности используется спектрофотометр с фильтром 450 нм.

4. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

Для 96 определений

| | | |
|------------------------|------------|--|
| Микропланшет | 1 | Микропланшет из 12 стрипов по 8 лунок каждый. Готов к использованию. |
| Калибратор А | 1 x 1.5 мл | Калибратор А 0 Ед/мл, содержит сывороточно-буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), желтого цвета. Готов к использованию. |
| Калибратор В | 1 x 1.5 мл | Калибратор В 100 Ед/мл, содержит антитела тиреоглобулина в сывороточно-буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), желтого цвета. Готов к использованию. |
| Калибратор С | 1 x 1.5 мл | Калибратор С 300 Ед/мл, содержит антитела тиреоглобулина в сывороточно-буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), желтого цвета. Готов к использованию. |
| Калибратор D | 1 x 1.5 мл | Калибратор D 1000 Ед/мл, содержит антитела тиреоглобулина в сывороточно-буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), желтого цвета. Готов к использованию. |
| Калибратор E | 1 x 1.5 мл | Калибратор E 3000 Ед/мл, содержит антитела тиреоглобулина в сывороточно-буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), желтого цвета. Готов к использованию. |
| Калибратор F | 1 x 1.5 мл | Калибратор F 9000 Ед/мл, содержит антитела тиреоглобулина в сывороточно-буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), желтого цвета. Готов к использованию. |
| Положительный Контроль | 1 x 1.5 мл | Контроль положительный, содержит антитела тиреоглобулина в сывороточно-буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), желтого цвета. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа. |
| Отрицательный Контроль | 1 x 1.5 мл | Контроль отрицательный, содержит антитела тиреоглобулина в сывороточно-буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%), желтого цвета. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа. |
| Растворитель | 20 мл | Буфер для Образцов ТГ/ТРО, содержит PBS, BSA, детергент, NaN ₃ 0.09%, желтого цвета, концентрат (5x). |
| Конъюгат | 15 мл | Ферментный Конъюгат; содержит антитела анти-человеческих IgG, меченых HRP; PBS, BSA, детергент, Proclin 0/05%, светло-красного цвета. Готов к использованию. |
| ТМБ | 15 мл | Субстрат ТМБ; содержит Тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию. |
| Стоп Раствор | 15 мл | Стоп Раствор; содержит кислоту. Готов к использованию. |
| Промывочный Раствор | 20 мл | Промывочной буфер, содержит Tris, детергент, консервант азид натрия 0.09%; концентрат 50X |
| | 1 | Инструкция |
| | 1 | Сертификат анализа |

5. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Ридер для измерений при 450 нм; опционно: референсный фильтр при 620 нм
- Компьютерная программа для обработки данных
- Мультиканальный диспенсер или пипетка на 100 мкл
- Вortexный миксер
- Пипетки 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Таймер
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Градуированная емкость на 100 мл и 1000 мл
- Пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

Данный набор подходит для использования на открытых автоматизированных ИФА процессорах. Каждый анализ должен быть оценен на соответствующей автоматизированной системе. Детальная информация доступна по запросу.

6. ЗАБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ

1. Забрать образцы цельной крови, избегая гемолиза.
2. Дать крови свернуться и отделить сыворотку или плазму центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и негемолизированной. Избегать гемолиза или липемии; хотя это не влияет на проведение анализа.
4. Образцы хранить при 2 - 8 °С, по крайней мере, 5 дней. До шести месяцев образцы могут храниться замороженными при -20 °С.
5. Избегать повторного замораживания-оттаивания образцов сыворотки.
6. Не рекомендуется тестирование образцов, деактивированных теплом.

7. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить набор при 2-8 °С в темноте.
- Не подвергать реагенты влиянию тепла, прямых солнечных лучей во время хранения и использования.
- Хранить микропланшет запечатанным и с влагопоглотителем.
- Срок годности не открытого набора – 18 месяцев от даты производства. Запечатанные реагенты стабильны до окончания срока годности набора.
- Разбавленные Промывочный буфер и Буфер для разведения образцов стабильны минимум 30 дней при хранении при 2-8 °С. Рекомендуем использовать в день разведения.

8. ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

1. Не использовать компоненты набора после окончания срока годности.
2. Не смешивайте компоненты наборов с разными номерами лотов.
3. Перед использованием необходимо довести реагенты до комнатной температуры.
4. Подготовить все образцы и реагенты до начала анализа. После начала анализа, проводить его непрерывно для получения надежных результатов.
5. Соблюдать порядок проведения теста.
6. Использовать только свежеразведенные образцы.
7. Пипетировать все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Во избежание загрязнения, менять наконечники для образцов и контролей.
9. Тщательно мыть микролулки и просушивать их.
10. Проводить все шаги инкубации с одинаковым промежутком времени.
11. Тестировать контрольные сыворотки или пулы для проверки работы реагентов и теста.
12. Не использовать лунки повторно.

9. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Все реагенты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*.
2. Набор содержит компоненты человеческого происхождения. Тестирование подтвердило отсутствие в них поверхностного антигена гепатита В и антител к ВИЧ. Тем не менее, ни один из существующих методов не может гарантировать, что продукты человеческой крови не инфицированы и их необходимо рассматривать как таковые.
3. Необходимо четко придерживаться порядка пипетирования, указанного в данной инструкции. Рекомендуется проводить контроль качества.
4. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °С в оригинальных флаконах.
5. Не смешивайте компоненты наборов с разными номерами лотов. Не использовать набор после истечения срока годности, указанного на упаковке.
6. Перед использованием необходимо довести реагенты до комнатной температуры и аккуратно перемешать.
7. Запрещается есть, пить и курить в местах хранения реагентов и проведения анализов.
8. Не пипетировать реагенты ртом.
9. При проведении анализа использовать одноразовые перчатки и тщательно мыть руки после проведения анализа.
10. Избегать контакта с ТМВ (3,3',5,5'-Тетраметилбензидин). При контакте ТМВ с участком кожи необходимо тщательно промыть его водой с мылом.

Стоп раствор содержит соляную кислоту. При контакте с кожей, необходимо тщательно промыть водой пораженный участок и обратиться к врачу.

10. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Подготовка промывочного раствора

Развести содержимое одного флакона концентрата промывочного раствора (50х) дистиллированной или деионизированной водой до объема 1000 мл перед использованием.

Подготовка буфера для образцов ТГ/ТРО

Развести содержимое одного флакона концентрата буфера для образцов (20 мл) дистиллированной или деионизированной водой до общего объема 100 мл перед использованием.

11. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Развести все образцы пациентов **1:100** с разбавителем для образцов. Для этого соединить 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в пробирке и тщательно перемешать.

Примечание: Калибраторы/Контроли готовы к использованию. Не разбавлять.

12. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Подготовить необходимое количество стрипов для калибраторов/контролей и разведенных образцов пациентов.

1. Пипетировать **100 мкл** калибраторов, контролей и разведенных образцов в соответствующие лунки.
2. Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °С).
3. Удалить содержимое лунок и промыть **3 раза 300 мкл** промывочного раствора.
4. Пипетировать **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую лунку.
5. Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре.
6. Удалить содержимое лунок и промыть **3 раза 300 мкл** промывочного раствора.
7. Пипетировать **100 мкл** раствора ТМБ в каждую лунку.
8. Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре.
9. Добавить **100 мкл стоп-раствора** в каждую лунку.
10. Инкубировать в течение **5 минут** при комнатной температуре.
11. Считать оптическую плотность при **450 нм** и подсчитать результаты. Цвет реакции стабилен 30 минут. Оптическую плотность необходимо считать за этот период времени.

Пример схемы пипетирования:

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|----------|----|----|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | A | P1 | | | | | | | | | | |
| B | B | P2 | | | | | | | | | | |
| C | C | P3 | | | | | | | | | | |
| D | D | P4 | | | | | | | | | | |
| E | E | P5 | | | | | | | | | | |
| F | F | P6 | | | | | | | | | | |
| G | C+ | P7 | | | | | | | | | | |
| H | C- | P8 | | | | | | | | | | |

P1, ... образцы пациентов, A-F калибраторы, C+, C- контроли

13. АТТЕСТАЦИЯ

Результаты теста являются действительными, если оптические плотности при 450 нм для калибраторов/контролей и результаты для контролей совпадают со значениями в диапазоне, указанном в Сертификате Контроля качества, который поставляется в каждом наборе. Если указанные критерии не выполняются, анализ считается недействительным и его необходимо повторить.

14. ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для данного анализа рекомендуется использовать 4-параметровую функцию с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации.

Подсчитайте значения оптической плотности для каждой калибровочной лунки. На линейно-логарифмической бумаге отметьте усредненные значения оптической плотности каждого калибратора против его концентрации. Постройте стандартную кривую. Концентрации образцов можно высчитать путем интерполяции по стандартной кривой.

15. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

15.1 Калибровка

Система калибрована против WHO контрольной подготовки 65/93 для антител анти-тиреоглобулина со значениями 1000 МЕд/мл.

15.2 Диапазон измерения

Диапазон данного анализа составляет 0 - 9000 МЕд/мл.

15.3 Ожидаемые значения

При проведении исследования в нормальном диапазоне образцов от здоровых пациентов были получены следующие значения с данным анализом:

Граничное значение Cut-off: 150 МЕд/мл

15.4 Интерпретация результатов

Отрицательный: < 100 МЕд/мл

Граничный: 100-150 МЕд/мл

Положительный: ≥ 150 МЕд/мл

15.5 Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были серийно разведены Буфером для образцов для демонстрации динамического диапазона анализа и верхней/нижней границы линейности. Активность для каждого разведения была рассчитана из калибровочной кривой с использованием 4-параметровой кривой.

| Образец | Разведение | Полученное значение, МЕд/мл | Ожидаемое значение, МЕд/мл | Отношение П/О, % |
|---------|------------|-----------------------------|----------------------------|------------------|
| 1 | 1:100 | 1366.9 | 1366.9 | 100 |
| | 1:200 | 617.7 | 683.0 | 90 |
| | 1:400 | 321.1 | 342.0 | 94 |
| | 1:800 | 173.0 | 171.0 | 101 |
| | 1:1600 | 84.9 | 85.0 | 99 |
| 2 | 1:100 | 3941.0 | 3941.0 | 100 |
| | 1:200 | 1955.0 | 1971.0 | 99 |
| | 1:400 | 998.0 | 985.0 | 101 |
| | 1:800 | 499.0 | 493.0 | 101 |
| | 1:1600 | 240.0 | 246.0 | 97 |

15.6 Предел обнаружения

Функциональная чувствительность составила 10 МЕд/мл

15.7 Воспроизводимость

Точность внутри анализа:

Коэффициент вариации (CV) рассчитывался для каждого из трех образцов из результатов 6 анализов в 5 разных исследованиях. Результаты приведены в таблице ниже.

Точность между анализами:

Коэффициент вариации (CV) рассчитывался для каждого из трех образцов из результатов 6 анализов в 5 разных исследованиях. Результаты приведены в таблице ниже.

| Точность внутри анализа | | |
|-------------------------|---------------------------|---------|
| № образца | Среднее значение [МЕд/мл] | CV, [%] |
| 1 | 746.0 | 2.6 |
| 2 | 1398.0 | 2.4 |
| 3 | 4674.0 | 5.0 |

| Точность между анализами | | |
|--------------------------|---------------------------|---------|
| № образца | Среднее значение [МЕд/мл] | CV, [%] |
| 1 | 765.0 | 5.7 |
| 2 | 1500.0 | 2.3 |
| 3 | 5565.0 | 4.0 |

15.8 Интерферирующие субстанции

Интерференция не наблюдалась при реакции с гемолитическими (до 1000 мг/дл), липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) или билирубином (до 40 мг/дл) образцами. Антикоагулянты также не влияют на результаты. Тем не менее, не рекомендуется использование сильно гемолизированных или липемических образцов.

15.9 Результаты исследований

| Исследование населения | n | Положит. | % |
|-----------------------------------|-----|----------|------|
| Hashimotos Thyroiditis, Graves | 130 | 125 | 96.2 |
| Нормальная человеческая сыворотка | 150 | 4 | 2.7 |

Чувствительность: 96.2 %

Специфичность: 97.3 %

Общая согласованность: 96.8 %

| Клиническая диагностика | | | | |
|-------------------------|----------|----------|----------|-----|
| | | Положит. | Отрицат. | |
| EIA-3708 | Положит. | 125 | 4 | |
| | Отрицат. | 5 | 146 | |
| | | 130 | 150 | 280 |

16. ОГРАНИЧЕНИЯ

Данный анализ предназначен для диагностического использования. Точный клинический диагноз не должен основываться на результатах только одного теста, а должен быть поставлен после всех клинических и лабораторных исследований. Также каждое решение по терапии должно приниматься индивидуально.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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