

НАБІР ІФА
ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ
ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНУ

3122-16, TSH ELISA

Каталог. №: 3122-16

Методика від 15-09-2015

Кількість : 96

Виробник : DAI (США)



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Тест	TSH ELISA
Метод	Імуносорбентний аналіз з використанням фіксованих ферментів
Принцип	Сендвіч Комплекс
Діапазон виявлення	0-20 мкОд/мл
Зразок	50 мкл сироватки
Специфічність	100 %
Чутливість	0.20 мкОд/мл
Загальний час	~ 80 хвилин
Термін зберігання	12 місяців

ПРИЗНАЧЕННЯ

Для кількісного визначення концентрації тиреотропного гормону (ТТГ) в людській сироватці.

ВСТУП

Визначення сироваткових або плазмових рівнів тиреотропного гормону (ТТГ) визнано як чутливий метод в діагностиці первинного та вторинного гіпотиреозу. ТТГ виділяється передньою долею гіпофіза і стимулює виробництво і випуск тироксину і трийодтироніну щитовидної залози. Це - глікопротеїд з молекулярною масою приблизно 28,000 daltons, складається з двох хімічно різних підгруп альфа і бети. Хоча концентрація ТТГ в крові надзвичайно низька, це достатньо для обслуговування нормальної функції щитовидної залози. Випуск ТТГ регулюється ТТГ-Рилизинг Гормоном (ТРГ), виробленим гіпоталамусом. Рівні ТТГ і ТРГ обернено пропорційно пов'язані з рівнем гормонів щитовидної залози. Коли є високий рівень гормонів щитовидної залози в крові, менша кількість ТРГ випускається гіпоталамусом, так що менша кількість ТТГ виділяється гіпофізом. Протилежна дія відбудеться, коли є зменшення гормонів щитовидної залози в крові. Цей процес відомий як механізм негативного зворотного зв'язку і відповідальний за підтримку належних рівнів цих гормонів в крові. ТТГ і глікопротеїди гіпофіза: (лютеїнізуючий гормон (ЛГ), фоллікулстимулюючого гормон (ФСГ), і людський хоріонічний гонадотропін (ХГ)), мають ідентичні альфа-ланцюга. Бета-ланцюг відмінна, але містить ідентичні послідовності амінокислоти, які можуть завдавати значну взаємну реактивність з деяким многокласним ТТГ-антисироватки. Використане моноклональних антитіл в цьому ТТГ наборі запобігає цю реактивність, яка могла приводити до хибно завищених значень ТТГ в менопаузі або у вагітних жінок - для яких оцінка статусу щитовидної залози клінічно важлива.

ПРИНЦИП

Цей ТТГ набір заснований на принципі твердофазного імуоферментного аналізу. У ньому використовується унікальне монокласне антитіло, спрямоване проти дистинктної антигенної детермінанти на непошкодженій ТТГ молекулі. Мишаче монокласне анти-ТТГ антитіло використовується для іммобілізації твердої фази (лунок на мікротитрувальному планшеті). Козячі анти-ТТГ антитіла знаходяться в розчині ферментного кон'югату. Зразок для випробування реагує одночасно з цими двома антитілами, в результаті чого молекули ТТГ знаходяться в «сендвічі» між твердою фазою і фермент-пов'язаними антитілами. Після 60 хвилин інкубації при кімнатній температурі лунки промиваються водою, для видалення незв'язаних мічених антитіл. Додається розчин ТМБ і інкубується протягом 20 хвилин, що призводить до розвитку синього кольору. Кольоровий розвиток зупиняється додаванням стоп розчину з утворенням жовтого кольору і проводиться вимір на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм.

Концентрація ТТГ прямо пропорційна кольоровій інтенсивності зразка.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Сироватку отримують із проб цільної крові, взятих відповідним способом. Набір призначений для роботи із зразками сироватки без домішок.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ ТА ОБЛАДНАННЯ

Матеріали, які входять до складу набору:

1. Планшет з лунками, покритими антитілом, 96 лунок.
2. Набір референтних стандартів 0; 0,5; 2,0; 5,0; 10, 20 і 40 мкМОд/мл, рідкі, готові до використання або ліофілізовані.
3. Ферментний кон'югат, 12 мл.
4. ТМВ субстрат, 12 мл
5. Стоп розчин, 12 мл.
6. Концентрат промивного буфера (50x), 15 мл.
7. Контрольний набір (опційно).

Матеріали, що не входять до складу поставки:

1. Точні піпетки: 40 ~ 200 мкл, 200-1000 мкл.
2. Одноразові наконечники для піпеток.
3. Дистильована вода.
4. Вихровий змішувач або аналог.
5. Промокальний папір або паперовий рушник.
6. Папір для побудови графіків.
7. Мікротитрувальний планшетний зчитувач.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

1. Перед використанням доведіть реагенти до кімнатної температури (18-22 °C).
2. Якщо референтні стандарти ліофілізовані, розвести кожен стандарт з 0.5 мл дистильованої води. Залишити на 20 хвилин. Зберігати закритими 2-8 °C.
3. Розбавте 1 частину промивального буфера (50x) 49 частинами дистильованої води. Наприклад, розбавте 15 мл концентрату розчину для промивання буфера (50x) в дистильованій воді, щоб приготувати 750 мл промивного буфера (1x). Перед використанням добре перемішайте.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. Помістіть потрібну кількість лунок в рамку для стрипів.
2. Внесіть 50 мкл стандартів, зразків і контролів у відповідні лунки.
3. Внесіть 100 мкл розчину ферментного кон'югату в кожен лунку.
4. Ретельно перемішайте вміст лунок на протязі 30 секунд. Важливо домогтися повного перемішування.
5. Інкубуйте при кімнатній температурі (18-22 °C) на протязі 60 хв.
6. Видаліть вміст лунок.
7. Промийте лунки 5 разів промивальним буфером (1x).
8. Перевернути планшет і легко постукати їм по розстеленому листу фільтрувального паперу або паперового рушника для видалення залишків рідини.
9. Внесіть 100 мкл розчину ТМБ в кожен лунку. Акуратно перемішайте в перебігу 5 секунд.
10. Інкубуйте при кімнатній температурі протягом 20 хвилин.
11. Зупиніть реакцію внесенням 100 мкл стоп розчину в кожен лунку.
12. Акуратно перемішайте протягом 30 секунд. Переконайтеся в повній зміні синього забарвлення на жовту.
13. Виміряйте оптичну щільність лунок при 450 нм.

Важливе зауваження:

Процедура промивання критична. Недостатнє промивання призведе до завищеної абсорбції та неточних результатів.

РЕЗУЛЬТАТИ

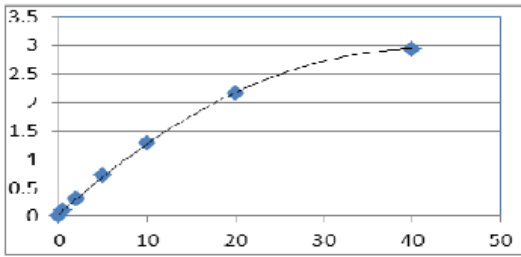
Визначте середню абсорбцію для кожного набору стандартів, контролю і зразків. Використовуючи лінійний або напівлогарифмічний папір, відзначте точки значень поглинання стандартів у мкМОд/мл на вертикальну вісь Y, а відповідні концентрації на горизонтальну вісь X. Використовуйте середнє значення поглинання для кожного зразка, щоб визначити відповідне значення концентрації ТТГ в мкМОд/мл із стандартної кривої.

Приклад побудови калібрувальної кривої

Результати отримують за допомогою калібрувальної кривої. Приклад побудови калібрувальної кривої наведено в якості ілюстрації. Його не можна використовувати для розрахунку концентрацій ТТГ у зразках.

ТТГ (мкМОд/мл)	Поглинання (450 нм)
0	0,011
0,5	0,099
2	0,313
5	0,715

10	1,287
20	2,156
40	2,937



Очікувані значення і чутливість

Середні значення ТТГ, засновані на 160 випадкових нормальних пробах крові дорослих, становить 1.6 (діапазон норми: 0.4-7.0) мкМОд/мл.

Мінімальна концентрація ТТГ, яка визначається за допомогою даного набору, є 0.2 мкМОд/мл.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

I. Достовірність: При порівнянні між нашими і комерційно доступними наборами було отримано наступні дані:

N = 179
Коефіцієнт кореляції = 0,98
Нахил = 0.886
Перетин = -0.08
Середнє (Наші набори) = 3.56
Середнє (набори Abbott Лабораторії) = 3.07

II. Точність:

1) В аналізі:

Concentrations	Replicates	Mean	S.D.	% CV
Level I	20	1.5	0.09	5.7
Level II	20	15.48	0.38	2.4
Level III	20	26.13	0.90	3.5

2) Між аналізами:

Concentrations	Replicates	Mean	S.D.	% CV
Level I	20	1.46	0.10	7.1
Level II	20	15.39	0.92	6.0
Level III	20	25.29	1.75	6.9

III. Лінійність

Сироватка пацієнта були послідовно розбавлена зі стандартом 0 мкМОд/мл в аналізі лінійності. Середнє відновлення становить 94.4%.

Sample			
Dilution	Expected	Observed	% Recov.
undiluted	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
Average Recovery: 94.4 %			

IV. Відновлення

Різні зразки сироватки пацієнтів з відомими рівнями ТТГ були змішані і аналізовані в дублях. Середнє відновлення становить 98.9%.

Expected Concentration	Observed Concentration	% Recovery
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
Average Recovery: 98.9 %		

V. Чутливість

Чутливість визначається як концентрація ТТГ, що відповідає щільності, яке на два стандартних відхилення більше ніж середня щільність 20 повторів нульового калібратора.

Мінімальна визначувана концентрація цього аналізу становить 0.2 мкМОд/мл.

VI. Перехресна реактивність

Наступні людські імуноглобуліни були протестовані на перехресну реактивність в аналізі:

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-Ефект

Хук-ефекту не спостерігалось до 1000 мкМОд/мл в цьому аналізі.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- Є деякі обмеження аналізу. Ми повинні дозволити нашим клієнтам знати про це.
- Як і зі всіма діагностичними тестами, визначений клінічний діагноз не повинен базуватися на результатах одного тесту, але повинен бути встановлений тільки лікарем після оцінки всіх клінічних та лабораторних досліджень.
- Дослідження виявили можливі інтерференції в імунологічних результатах у деяких пацієнтів з відомим ревматоїдним фактором і антинуклеарними антитілами. Зразки сироватки від пацієнтів, які отримали терапію з мишачими моноклональними і антитілами в діагностичних або терапевтичних цілях, можуть містити антитіла до білків миші (НАМА). Хоча ми додали кілька агентів, щоб уникнути перешкод, ми не можемо гарантувати, усунення всіх наслідки цього.
- Процедура промивки (кроки 6-8) має вирішальне значення. Недостатня промивка призведе до низької точності і завищених значень щільності. Використання водопровідної води для промивки може призвести до більш високої фонові оптичної щільності.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Середні значення ТТГ, засновані на 160 випадкових нормальних пробах крові дорослих, становить 1.6 (діапазон норми: 0.4-7.0) мкМОд/мл.

Мінімальна концентрація ТТГ, яка визначається за допомогою даного набору, є 0.2 мкМОд/мл.

ЗБЕРІГАННЯ

- Нерозкриті набори після отримання слід зберігати при 2-8 °C, а планшет - в закритій упаковці з поглиначем вологи, щоб мінімізувати потрапляння вологого повітря. Набір аналізу може використовуватися на протязі терміну придатності (Один рік від дати виробництва). Термін придатності вказаний на етикетці упаковки.
- Розкриті набори залишаються стабільними до закінчення терміну придатності при зберіганні згідно інструкції.
- Відповідним є мікропланшетний зчитувач з шириною доріжки 10 нм або менше і діапазоном оптичної щільності 0-2 ОП або вище при довжині хвилі 450 нм.



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com