

НАБІР РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ТИРЕОЇДНОЇ ПАНЕЛІ VAST: ТИРОКСИНУ, ТРИЙОДТИРОНІНУ, ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНУ МЕТОДОМ ІФА

Total Triiodothyronine, Total Thyroxine, Thyrotropin (Total T3/Total T4/TSH VAST®) Thyroid Panel

Кат. №: 8025-300B

Дата випуску інструкції: 16-07-2019

Версія: 4



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

1.0 ПРЕДСТАВЛЕННЯ

Призначення: Кількісне визначення Тироксину загального; Трийодтироніну загального; концентрації Тиреотропного гормону для оцінки комплексного стану щитовидної залози в зразку сироватки або плазми людини за допомогою мікропланшетного імуноферментного аналізу, колориметричного.

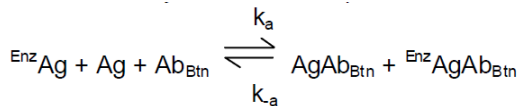
2.0 ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ (Див. оригінал інструкції)

3.0 ПРИНЦИП МЕТОДУ

Конкурентний імуноаналіз (Трийодтиронін загальний, Тироксин загальний) - Тип 7

Необхідні для ІФА реагенти включають: антитіла, кон'югат фермент-антиген, нативний антиген та субстрат.

При змішуванні біотинильованих антитіл, кон'югату фермент-антиген та сироватки, що містить нативний антиген, відбувається конкурентна реакція між нативним антигеном та кон'югатом фермент-антиген за обмежену кількість зв'язуючи сайтів антитіл. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:



$\text{Ab}_{\text{C.W}}$ = Моноспецифічні іммобілізовані антитіла (постійна кількість)

Ag = Нативний антиген (змінна кількість)

EnzAg = Кон'югат фермент-антиген (постійна кількість)

AgAb_{Btn} = Комплекс антиген-антитіло

$\text{EnzAgAb}_{\text{Btn}}$ = Комплекс фермент-кон'югат антигена-антитіло

k_a = Константа швидкості асоціації

k_{-a} = Константа швидкості дисоціації

$K = k_a/k_{-a}$ = Константа рівноваги

Одночасно відбувається реакція між біотином, прикріпленим до антитіл і стрептавідином, прикріпленим до мікролунок. Це дозволяє відділити зв'язану фракцію антитіл після декантації/аспірації.

$\text{AgAb}_{\text{Btn}} + \text{EnzAgAb}_{\text{Btn}} + \text{Стрептавідин}_{\text{C.W}} \Rightarrow$ Іммобілізований комплекс

Стрептавідин_{C.W} = Стрептавідин, іммобілізований на лунці

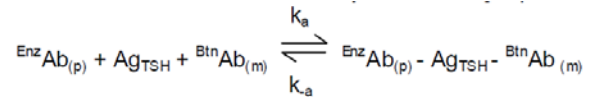
Іммобілізований комплекс = сендвіч-комплекс, прив'язаний до твердої поверхні

Активність ферменту в зв'язаній з антитілами фракції вимірюється в кольоровій реакції з субстратом. Використовуючи декілька різних референтних сироваток з відомими концентраціями антигена, будується калібраційна крива, по якій встановлюється невідома концентрація антигену.

Імуноферментний аналіз (ТТГ) - ТИП 3

Реагенти, потрібні для імуноферментного аналізу, включають високоафінні та специфічні антитіла (мічені ферментом та іммобілізовані) з різними епітопами для розпізнавання, в надлишку, та нативний антиген. В даній процедурі відбувається зв'язування на поверхні лунок при взаємодії стрептавідину, яким покриті лунки та внесених ззовні біотинильованих моноклональних антитіл до ТТГ.

При змішуванні моноклональних біотинильованих антитіл, ферментованих антитіл та сироватки, що містить нативний антиген, відбувається реакція між нативним антигеном і антитілами, без конкуренції та просторових забруднень, з формуванням розчинного сендвіч-комплексу. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:



$\text{BtnAb}_{(m)}$ = Біотинильоване моноклональне антитіло (надлишкова кількість)

Ag_{TSH} = Нативний антиген (змінна кількість)

$\text{EnzAb}_{(p)}$ = Фермент-поліклональне антитіло (надлишкова кількість)

$\text{EnzAb}_{(p)} - \text{Ag}_{\text{TSH}} - \text{BtnAb}_{(m)}$ = Сендвіч-комплекс антиген-антитіла

k_a = Константа швидкості асоціації

k_{-a} = Константа швидкості дисоціації

Одночасно, комплекс відкладається на лунках через високо споріднену реакцію стрептавідину та біотинильованих антитіл. Взаємодія ілюструється наступним:

$\text{EnzAb}_{(p)} - \text{Ag}_{\text{TSH}} - \text{BtnAb}_{(m)} + \text{Стрептавідин}_{\text{C.W}} \Rightarrow$ Іммобілізований комплекс

Стрептавідин_{C.W} = Стрептавідин, іммобілізований на лунці

Іммобілізований комплекс = сендвіч-комплекс, прив'язаний до твердої поверхні

Після досягнення рівноваги, зв'язана з антитілами фракція відділяється від незв'язаного антигену декантацією чи аспірацією. Ферментна активність зв'язаної з антитілами фракції вимірюється в реакції з субстратом. Використання кількох референтних сироваток з відомою концентрацією тиреоїдних гормонів дозволяє побудувати калібрувальну криву (і). Шляхом порівняння з дозо залежною кривою (кривими) активність невідомого зразка встановлюється по кореляції з концентрацією гормонів.

4.0 Реагенти для 2 x 96-луноквих планшетів, постачаються

A. Combi-Cal™ Тиреоїдний калібратор - 1 мл (мл)/флакон

Шість флаконів референтної сироватки (калібраторів) з концентраціями - див. таблицю. Зберігати при 2-8 °C (°C). Містить консерванти.

| Аналіт | Трийодтиронін (нг/мл (ng/ml)) | Тироксин (мкг/дл (µg/dl)) | ТТГ (мкМО/мл (µIU/ml)) |
|--------|----------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| A | 0 | 0 | 0 |
| B | 0.5 | 2.0 | 0.5 |
| C | 1.0 | 5.0 | 2.5 |
| D | 2.5 | 10.0 | 10.0 |
| E | 5.0 | 15.0 | 20.0 |
| F | 7.5 | 25.0 | 40.0 |

B. Ферментний реагент Тироксину - 1 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить кон'югат тироксин-пероксидаза хрому в стабілізуючій матриці бичачого альбуміну. Містить консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

C. Ферментний реагент Трийодтироніну - 1 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить кон'югат трийодтиронін-пероксидаза хрому в стабілізуючій матриці бичачого альбуміну. Містить консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

D. Буфер s-Трийодтиронін/Тироксин - 13 мл (мл)/флакон

Один флакон, містить буфер, червоний барвник, консервант та інгібітори зв'язування білків. Зберігати при 2-8 °C (°C).

E. Ферментний реагент ТТГ - 20 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить мічені ферментом афінноочищені поліклональні антитіла кози, біотинильовані моноклональні IgG миші в буфері, барвник та консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

F. Біотиновий реагент анти-Тироксину - 7 мл (мл)/флакон

Один флакон біотинильованого реагенту анти-тироксину (вівці) в білково-стабілізуючій матриці. Додано консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

G. Біотиновий реагент анти-Трийодтироніну - 7 мл (мл)/флакон

Один флакон біотинильованого реагенту анти-трийодтироніну (вівці) в білково-стабілізуючій матриці. Додано консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

H. Мікропланшет, покритий стрептавідином - 2 x 96 лунок

Два 96-луноквих мікропланшети, покритих стрептавідином та запакованих в пакет з осушувачем. Зберігати при 2-8 °C (°C).

- I. Концентрат розчину для промивання - 20 мл (мл)**
Один флакон, що містить ПАР в буферному розчині. Додано консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).
- J. Субстрат А - 2 x 7 мл (мл)/флакон**
Два флакони, що містять ТМБ в буфері. Зберігати при 2-8 °C (°C).
- K. Субстрат В - 2 x 7 мл (мл)/флакон**
Два флакони, що містять перекис водню (H₂O₂) в буфері. Зберігати при 2-8 °C (°C).
- L. Стоп-розчин - 2 x 8 мл (мл)/флакон**
Два флакони, що містять сильну кислоту (1N HCl). Зберігати при 2-8 °C (°C).
- M. Інструкція**

Зауваження 1: Концентрації ТТГ калібровані з використанням референсних препаратів, досліджених за 2-м IRP 80/558 ВООЗ.

Зауваження 2: Не використовуйте реагенти по завершенню терміну придатності.

Зауваження 3: Уникайте тривалого впливу тепла та світла. Відкриті реагенти стабільні протягом шістдесяти (60) днів при зберіганні при 2-8 °C (°C). Стабільність набору та компонентів визначені на етикетці.

4.1 Необхідні матеріали, що не поставляються з набором

1. Мікродозатори на 25 та 50 мкл (μl) з точністю не гірше 1.5%
2. Диспенсери на 100 та 300 мкл (μl) з точністю не гірше 1.5%
3. Диспенсери перемінного об'єму 20-200 мкл (μl) та 200-1000 мкл (μl) для розведення кон'югату і субстрату
4. Мікропланшетний вошер або пляшка під тиском (опційно)
5. Мікропланшетний рідер з фільтрами 450 нм (nm) і 620 нм (nm)
6. Посуд для приготування Робочого розчину ферментного кон'югату та субстратів А та В
7. Фільтрувальний папір для просушування планшета
8. Поліетиленова плівка чи кришка для інкубації мікропланшета
9. Вакуумний аспіратор (опційно) для промивання
10. Таймер
11. Контрольні матеріали

5.0 ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

**Набір призначений тільки для діагностики in vitro
Не для внутрішнього або зовнішнього використання
на людях або тваринах**

Використовувана для виготовлення компонентів набору людська сироватка протестована методами, схваленими FDA, в яких отримані негативні результати на наявність антитіл до ВІЛ 1 та 2, ВГС і поверхневого антигену гепатиту В. Однак, оскільки не існує методів, що дають повну гарантію відсутності інфекційних агентів, з реагентами слід поводитися з обережністю, як з потенційно небезпечним біоматеріалом, що рекомендується для будь-яких зразків крові згідно правил кваліфікованої лабораторної практики. Рекомендації дивіться в національних посібниках з біобезпеки або, наприклад, в «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories», 2-е видання, 1988, NHS Publication No. (CDC) 88-8395.

Безпечна утилізація компонентів набору повинна відповідати місцевим нормативним та законодавчим вимогам.

6.0 ЗАБІР ТА ПРИГОТУВАННЯ ЗРАЗКІВ

Зразками слугує кров, у вигляді сироватки чи плазми. Забір крові здійснюйте з дотриманням звичайних правил при венепункції. Для порівнюваності з встановленими нормальними величинами рекомендується отримати зразки сироватки ранком натщесерце. Зберіть кров в пробірці для венепункції з червоною кришкою без добавок чи антикоагулянтів (для сироватки) чи в пробірці з ЕДТА або гепарином для плазми. Дозвольте крові згорнутись (для сироватки). Відцентрифугуйте зразок для відділення сироватки чи плазми від клітин.

У пацієнтів, які отримують терапію високими дозами біотину (тобто > 5 мг (mg)/добу), не слід брати зразок до принаймні 8 годин після останнього введення біотину, переважно протягом ночі, щоб забезпечити зразок натщесерце.

Зразки можуть бути охолоджені до 2-8 °C (°C) на термін максимум 5 днів. Якщо зразки не досліджуватимуться в цей час, зберігайте їх при -20 °C (°C) до 30 днів. Уникайте використання забруднених пристроїв. Уникайте повторних циклів розморожування/заморожування. При тестуванні в дублях необхідно 0.05 мл (ml) зразка для Тироксину і 0.10 мл (ml) зразка для Трийодтироніну або ТТГ.

7.0 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна використовувати контролю відповідно гіпо-, гіпер- і еутиреоїдним діапазоном для відстеження характеристик набору. Ці контролю повинні досліджуватися як невідомі зразки в кожній постановці аналізу. Повинні будуватися карти контролю якості для відстеження характеристик поставлених реагентів. Слід застосовувати прийнятні статистичні методи для встановлення відхилень. Значні відхилення від встановлених характеристик можуть свідчити про зміни в умовах експерименту або деградацію реагентів набору. Для визначення причини змін повинні бути використані свіжі реагенти.

8.0 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

1. Робочий реагент А = Розчин ферментного кон'югату Трийодтироніну або Тироксину

Розведіть кон'югат фермент-Трийодтиронін (або фермент-Тироксин) 1:11 загальним буфером для кон'югату Трийодтиронін/Тироксин у відповідній ємності. Наприклад, розведіть 80 мкл (μl) кон'югату в 0.8 мл (ml) буфера для 16 лунок (з невеликим надлишком). Цей розчин потрібно використати протягом 24 годин до постановки аналізу. Зберігати при 2-8 °C (°C).

Загальна формула:

Кількість необхідного буфера = к-ть лунок * 0.05

Необхідно кон'югату фермент-Трийодтиронін (Тироксин) = к-ть лунок * 0.005

Напр. 16 x 0.05 = 0.8 мл (ml) загального буфера для кон'югату

16 x 0.005 = 0.08 мл (ml) (80 мкл (μl)) для Тироксину (Трийодтироніну) ферментного кон'югату.

2. Промивний буфер

Розведіть вміст концентрату промивного буфера до 1000 мл (ml) дистильованою чи деіонізованою водою в придатній ємності. Зберігати при кімнатній температурі 2-30 °C (°C) до 60 днів.

3. Робочий розчин субстрату

Вилийте вміст бурштинового флакона, який позначений Розчин «А», у прозорий флакон із написом Розчин «В». Закрийте жовтим ковпачком прозорий флакон для легкої ідентифікації. Змішайте та позначте відповідно. Зберігати при температурі 2-8 °C (°C).

Зауваження 1: Не використовуйте робочий субстрат, якщо він виглядає голубим.

Зауваження 2: Не використовуйте забруднені реагенти або такі, що мають ознаки росту бактерій.

9.0 ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ

Перед початком аналізу всі реагенти, стандарти та контролю повинні досягнути кімнатної температури (20-27 °C (°C)).

****Процедуру тестування повинна виконувати кваліфікована особа або навчений фахівець****

1. Виберіть необхідну кількість лунок для зразків, стандартів і контролю для постановки в дублях. Поверніть невикористовувані смужки назад в пакет і закрийте його. Зберігайте при 2-8 °C (°C).
2. Внесіть 0.025 мл (ml) (25 мкл (μl)) відповідних референсних сироваток, контролю чи зразків в позначені лунки для Тироксину загального. Внесіть 0.050 мл (ml) (50 мкл (μl)) для Трийодтироніну загального. Внесіть 0.050 мл (ml) (50 мкл (μl)) для ТТГ.
3. Внесіть 0.050 мл (ml) (50 мкл (μl)) робочого реагенту А, ферментного кон'югату Тироксину загального чи Трийодтироніну загального у відповідні лунки. Для ТТГ внесіть 0.100 мл (ml) ферментного реагенту ТТГ і пропустіть кроки 4 і 5.
4. Перемішайте вміст лунок легкими коловими рухами планшета протягом 20-30 секунд і накрийте.
5. Внесіть 50 мкл (μl) розчину кон'югату біотинильованих антитіл Тироксину загального (або Трийодтироніну загального) у відповідні лунки.
6. Перемішайте вміст лунок легкими коловими рухами планшета 20-30 секунд і накрийте.
7. Інкубуйте 60 хвилин при кімнатній температурі.
8. Видаліть вміст лунок декантацією чи аспірацією. При декантації осушіть лунки перевертанням планшета на фільтрувальний папір.
9. Внесіть 350 мкл (μl) промивного буфера (див. розділ «Підготовка реагентів») та видаліть його декантацією чи аспірацією. Повторіть ще 2 рази до загальної кількості 3 промивки. Для цієї процедури краще використовувати автоматичний або ручний вошер відповідно до інструкцій виробника приладів. Якщо використовується пляшка під тиском, наповнити кожен лунку до верху (уникайте утворення повітряних бульбашок). Видаліть вміст і повторіть ще 2 рази.
10. Внесіть по 100 мкл (μl) субстратного реагента в кожен лунку (див. «Підготовка реагентів»). Завжди вносіть реагенти в однаковій

послідовності для мінімізації розбіжностей по часу реакції між лунками.

НЕ СТРУШУЙТЕ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ СУБСТРАТУ

11. Інкубуйте 15 хвилин при кімнатній температурі.
12. Внесіть 50 мкл (µl) стоп-розчину в кожну лунку та злегка перемішайте 15-20 секунд. Завжди вносіть реагенти в однаковій послідовності для мінімізації розбіжностей по часу реакції між лунками.
13. Зчитайте абсорбцію в кожній лунці при 450 нм (nm) (використовуючи референсну довжину хвилі 620-630 нм (nm)) на мікропланшетному рідері. Зчитування повинно бути проведене протягом 30 хвилин після додавання стоп-розчину.

Зауваження: Для повторного аналізу зразків з концентрацією більш, ніж найвищий калібратор, розведіть 0.0125 мл (ml) зразка (12.5 мкл (µl) для Тироксину загального) чи 0.025 мл (ml) зразка (25 мкл (µl) для Трийодтироніну загального-ТТГ) та 0.0125 мл (ml) (12.5 мкл (µl) для Тироксину загального) чи 0.025 мл (ml) (25 мкл (µl) для Трийодтироніну загального-ТТГ) «0» референсної сироватки в лунці для зразка (це забезпечить однакову концентрацію протеїнів). Помножьте зчитані дані на фактор розведення 2 для отримання реальних концентрацій.

10.0 РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Для визначення концентрації тиреоїдних гормонів в невідомих зразках використовується калібрувальна крива.

1. Запишіть значення оптичної щільності для всіх лунок, як показано в прикладі 1 для Тироксину загального, в прикладі 2 для Трийодтироніну загального та в прикладі 3 - для ТТГ.
2. Для побудови калібрувальної кривої на міліметровому папері використовуйте кожну з двох оптичних густин для кожного стандарту в залежності від концентрації Тироксину загального в мкг/дл (µg/dl), (Трийодтироніну загального в нг/мл (ng/ml), ТТГ в мкМО/мл (µIU/ml)) (не розраховуйте середнього значення до побудови).
3. Проведіть оптимальну калібрувальну криву за побудованими точками.
4. Щоб визначити концентрацію Тироксину загального (Трийодтироніну загального-ТТГ) для невідомого, знайдіть середнє поглинання дублікатів для кожного невідомого по вертикальній осі графіка, знайдіть точку перетину на кривій і прочитайте концентрацію в мкг/дл (µg/dl) Тироксину загального (нг/мл (ng/ml) Трийодтироніну загального, мкМО/мл (µIU/ml) ТТГ) від горизонтальної осі графіка (дублікати невідомого можуть бути усереднені, як зазначено).

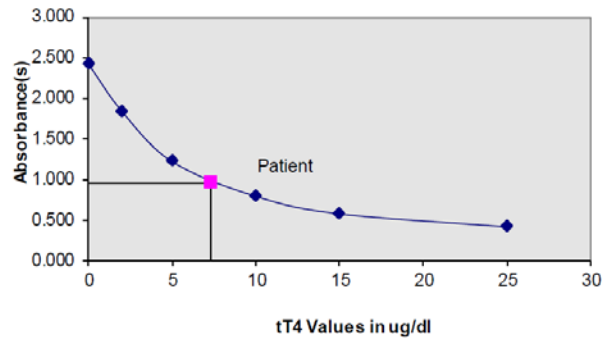
Примітка: Програмне забезпечення для обробки даних, призначене для аналізу ІФА, також може використовуватися для обробки даних. Якщо таке програмне забезпечення використовується, слід перевірити програмне забезпечення.

Дані, представлені в Прикладах 1-3 та Малюнках 1-3, призначені лише для ілюстрації та не повинні використовуватися замість калібрувальної кривої, підготовленої для кожного аналізу.

ПРИКЛАД 1 - Тироксин загальний

| ID зразка | № лунки | Abs (A) | Середнє Abs (B) | Значення (мкг/дл (µg/dl)) |
|--------------|---------|---------|-----------------|---------------------------|
| Калібратор А | A1 | 2.451 | 2.419 | 0 |
| | B1 | 2.387 | | |
| Калібратор В | C1 | 1.845 | 1.839 | 2 |
| | D1 | 1.832 | | |
| Калібратор С | E1 | 1.229 | 1.221 | 5 |
| | F1 | 1.213 | | |
| Калібратор D | G1 | 0.811 | 0.795 | 10 |
| | H1 | 0.779 | | |
| Калібратор E | A2 | 0.582 | 0.581 | 15 |
| | B2 | 0.580 | | |
| Калібратор F | C2 | 0.440 | 0.419 | 25 |
| | D2 | 0.398 | | |
| | H2 | 0.750 | | |
| Зразок | A3 | 0.960 | 0.963 | 7.3 |
| | B3 | 0.965 | | |

Малюнок 1

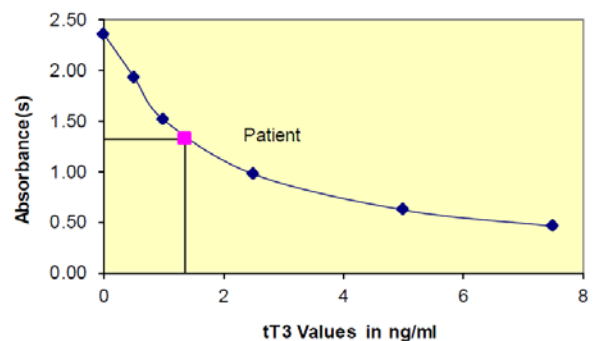


Absorbance(s) - Абсорбція(і)
tT4 Values in µg/dl - Значення Тироксину загального в мкг/дл
Patient - Пацієнт

ПРИКЛАД 2 - Трийодтиронін загальний

| ID зразка | № лунки | Abs (A) | Середнє Abs (B) | Значення (нг/мл (ng/ml)) |
|--------------|---------|---------|-----------------|--------------------------|
| Калібратор А | A1 | 2.302 | 2.352 | 0 |
| | B1 | 2.401 | | |
| Калібратор В | C1 | 1.978 | 1.930 | 0.5 |
| | D1 | 1.930 | | |
| Калібратор С | E1 | 1.551 | 1.507 | 1.0 |
| | F1 | 1.462 | | |
| Калібратор D | G1 | 0.972 | 0.972 | 2.5 |
| | H1 | 0.966 | | |
| Калібратор E | A2 | 0.634 | 0.619 | 5.0 |
| | B2 | 0.604 | | |
| Калібратор F | C2 | 0.465 | 0.455 | 7.5 |
| | D2 | 0.447 | | |
| | H2 | 0.931 | | |
| Зразок | A3 | 1.305 | 1.328 | 1.35 |
| | B3 | 1.350 | | |

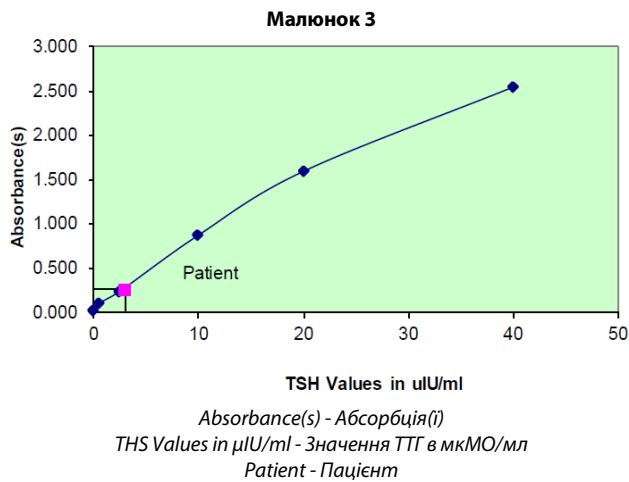
Малюнок 2



Absorbance(s) - Абсорбція(і)
tT3 Values in ng/ml - Значення Трийодтироніну загального в нг/мл
Patient - Пацієнт

ПРИКЛАД 3 - ТТГ

| ID зразка | № лунки | Abs (A) | Середнє Abs (B) | Значення (мкг/дл (µg/dl)) |
|--------------|---------|---------|-----------------|---------------------------|
| Калібратор А | A1 | 0.020 | 0.021 | 0 |
| | B1 | 0.022 | | |
| Калібратор В | C1 | 0.114 | 0.103 | 0.5 |
| | D1 | 0.092 | | |
| Калібратор С | E1 | 0.246 | 0.238 | 2.5 |
| | F1 | 0.231 | | |
| Калібратор D | G1 | 0.904 | 0.872 | 10 |
| | H1 | 0.839 | | |
| Калібратор E | A2 | 1.650 | 1.591 | 20 |
| | B2 | 1.533 | | |
| Калібратор F | C2 | 2.648 | 2.547 | 40 |
| | D2 | 2.445 | | |
| | H2 | 0.535 | | |
| Пацієнт | A3 | 0.266 | 0.265 | 3.0 |
| | B3 | 0.263 | | |



11.0 ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Результати аналізу вважаються дійсними лише при виконанні наступних критеріїв:

1. Оптична густина Калібратора А для Трийодтироніну загального і Тироксину загального, калібратора F для ТТГ повинні бути ≥ 1.8 .
2. Чотири з шести контролів якості повинні вкладатися в установлені інтервали.

12.0 АНАЛІЗ РИЗИКІВ

Форма MSDS та аналіз ризику для цього продукту доступна на запит від Monobind Inc.

12.1 Якість набору

1. Для відтворюваності результатів важливо, щоб час реакції підтримувався постійним в кожній лунці.
2. Піпетування зразків не повинно перевищувати 10 хвилин.
3. Не використовувати високо ліпемічні, гемолізовані або забруднені зразки.
4. Якщо використовується більше, ніж один планшет, рекомендується повторювати калібрувальну криву.
5. Додавання субстратного розчину ініціює кінетичну реакцію, яка зупиняється при додаванні стоп-розчину. Отже, додавання субстрату і стоп-розчину повинно проводитися в однаковій послідовності для усунення відмінностей у часі реакції в різних лунках.
6. Вимірювання оптичної щільності на рідері проходить вертикально. Не торкайтеся до дна мікролунок.
7. Погана промивка лунок (неповне видалення розчину під час аспірації) може призводити до невідтворюваних і недостовірних результатів.
8. Використовуйте компоненти тільки з одного лота. Не змішуйте реагенти з різних партій.
9. Зразки з концентрацією більше, ніж найвищий калібратор, розведіть 0.0125 мл (ml) зразка (12.5 мкл (μl) для Тироксину загального) чи 0.025 мл (ml) (25 мкл (μl) для Трийодтироніну загального-ТТГ) та 0.0125 мл (ml) (12.5 мкл (μl) для Тироксину загального) чи 0.025 мл (ml) (25 мкл (μl) для Трийодтироніну загального-ТТГ) «0» референсної сироватки в лунці для зразка (це забезпечить однакову концентрацію протеїнів). Помножьте зчитані дані на фактор розведення 2 для отримання реальних концентрацій.
10. Правильне і точне дозування, а також дотримання точного часу і температурних вимог є необхідними умовами. Будь-які відхилення від встановлених Monobind можуть давати невірні результати.
11. Дотримуватись всіх встановлених норм роботи лабораторної практики для забезпечення нормальної роботи пристрою.
12. Важливим є калібрування всього обладнання, тобто, дозаторів, рідера, вошера та/або автоматизованих інструментів, які використовуються з даним пристроєм. Також обов'язковим є належний догляд і обслуговування пристрою.
13. Аналіз ризиків для даного пристрою може бути наданий Monobind.

12.2 Інтерпретація результатів

1. **Вимірювання та інтерпретація результатів повинні проводитись професіоналами.**
2. Лабораторні результати не можуть бути єдиним критерієм для визначення лікування, особливо, якщо отримані результати не співпадають з іншими дослідженнями.
3. Реагенти для тест-системи були сформульовані для усунення максимальних перешкод; однак потенційна взаємодія між рідкісними зразками сироватки та тест-реактивами може спричинити помилкові результати. Гетерофільні антитіла часто викликають ці взаємодії і, як

відомо, є проблемами для всіх видів імуноферментних аналізів (Boscato LM, Stuart MC. «Гетерофільні антитіла: проблема для всіх імуноферментних досліджень», Chem. 1988: 3427-33). Для діагностичних цілей результати цього аналізу повинні поєднуватися з клінічним обстеженням, анамнезом пацієнта та всіма іншими клінічними результатами.

4. Для отримання дійсних результатів адекватні контролю та інші параметри повинні знаходитись в межах встановлених норм.
5. **Monobind не несе відповідальності** за результати тесту в разі, якщо складові набору були замінені іншими складовими з інших наборів, або якщо результати були інтерпретовані невірно.
6. Якщо для обробки результатів тесту використовується комп'ютер, то розраховані значення стандартів не повинні відхилятися більш, ніж на 10% від приписаних значень концентрації.
7. Концентрація загального тироксину в сироватці крові залежить від багатьох факторів: функції щитовидної залози та її регуляції, концентрації тироксиназв'язуючого глобуліну (ТЗГ) і зв'язування тироксину з ТЗГ. Таким чином, визначення однієї лише концентрації загального тироксину недостатньо для оцінки клінічної картини.
8. Рівень загального тироксину в сироватці може бути підвищений за таких умов, як вагітність або прийом оральних контрацептивів. Тест на визначення Трийодтироніну загального-Uptake може бути виконаний для оцінки відносної концентрації ТЗГ, щоб визначити, чи підвищений Тироксин загальний викликаний коливаннями ТЗГ.
9. Знижені рівні Тироксину загального спостерігаються при деяких хворобах, пов'язаних з втратою білка, хворобах печінки, прийомі тестостерону, дифенілгдантоїну саліцилатів. Журнал Американської асоціації клінічних хіміків склав таблицю лікарських засобів і станів, що впливають на рівень Тироксину загального.

«НАБІР НЕ ПРИЗНАЧЕНИЙ ДЛЯ СКРИНІНГУ НОВОНАРОДЖЕНИХ»

13.0 ОЧІКУВАНІ ДІАПАЗОНИ ЗНАЧЕНЬ

Для визначення очікуваних значень було проведено дослідження еутиреоїдного дорослого населення. Середні значення (R), стандартні відхилення (σ) і очікувані діапазони ($\pm 2\sigma$) представлені в Таблиці 1 для Тироксину загального і в Таблиці 2 для Трийодтироніну загального. Для ТТГ у Таблиці 3 використовувався непараметричний метод (оцінка 95% перцентиля).

ТАБЛИЦЯ 1

| Очікувані значення для Тироксину загального в мкг/дл ($\mu\text{g/dl}$) | Чоловіки | Жінки* |
|---|-------------|------------|
| | Середнє (X) | 7.6 |
| Стандартне відхилення (δ) | 1.6 | 1.7 |
| Очікуваний діапазон ($\pm 2 \delta$) | 4.4 - 10.8 | 4.8 - 11.6 |
| N | 42 | 58 |

* Нормальні пацієнти з високим рівнем ТТГ не вилучалися (крім вагітних).

ТАБЛИЦЯ 2

| Очікувані значення для Трийодтироніну загального в нг/мл (ng/ml) | |
|---|-----------|
| Середнє (X) | 1.250 |
| Стандартне відхилення (δ) | 0.375 |
| Очікуваний діапазон ($\pm 2 \delta$) | 0.50-2.00 |
| N | 105 |

ТАБЛИЦЯ 3

| Очікувані значення для ТТГ в мкМО/мл ($\mu\text{IU/ml}$) | |
|--|-----------|
| N | 139 |
| Низький нормальний діапазон | 0.39 |
| Високий нормальний діапазон | 6.16 |
| 70% Довірчі Інтервали для 2.5 перцентиля | |
| Низький діапазон | 0.28-0.53 |
| Високий діапазон | 5.60-6.82 |

Важливо мати на увазі, що встановлений діапазон значень, який можна очікувати у даній популяції «нормальних» людей з використанням даного методу, залежить від безлічі факторів: специфічності методу, тестованої популяції і точності методу в руках лаборанта. З цих причин кожна лабораторія повинна встановити свій власний діапазон нормальних значень.

14.0 ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ

14.1 Точність

Точність Тест-системи Тиреоїдна панель AccuBind® ІФА визначали за допомогою аналізів трьох різних рівнів пулу контрольних сироваток. Кількість, середні значення, стандартне відхилення та коефіцієнт варіації для кожної з цих контрольних сироваток представлено для Тироксину

загального у Таблицях 4 і 5, для Трийодтироніну загального у Таблицях 6 і 7, а для ТТГ у Таблицях 8 і 9.

ТАБЛИЦЯ 4

Точність в аналізі - Значення Тироксину загального в мкг/дл (µg/dl)

| Зразок | N | x | δ | C.V., % |
|------------|----|------|------|---------|
| Низький | 16 | 3.1 | 0.21 | 6.7 |
| Нормальний | 16 | 8.9 | 0.27 | 3.0 |
| Високий | 16 | 16.5 | 0.73 | 4.4 |

ТАБЛИЦЯ 5

Точність між аналізами

| Зразок | N | x | δ | C.V., % |
|------------|----|------|------|---------|
| Низький | 10 | 3.0 | 0.25 | 8.3 |
| Нормальний | 10 | 8.7 | 0.32 | 3.7 |
| Високий | 10 | 16.3 | 0.69 | 4.2 |

*вимірювання проводились в десяти експериментах в дублях протягом 10 днів.

ТАБЛИЦЯ 6

Точність в аналізі - Значення Трийодтироніну загального в нг/мл (ng/ml)

| Зразок | N | x | δ | C.V., % |
|------------|----|------|------|---------|
| Низький | 16 | 0.78 | 0.06 | 7.9 |
| Нормальний | 16 | 1.92 | 0.10 | 5.4 |
| Високий | 16 | 3.55 | 0.14 | 3.9 |

ТАБЛИЦЯ 7

Точність між аналізами

| Зразок | N | x | δ | C.V., % |
|------------|----|------|------|---------|
| Низький | 10 | 0.76 | 0.07 | 8.9 |
| Нормальний | 10 | 1.85 | 0.13 | 6.7 |
| Високий | 10 | 3.43 | 0.16 | 4.5 |

*вимірювання проводились в десяти експериментах в дублях протягом 10 днів.

ТАБЛИЦЯ 8

Точність в аналізі - Значення ТТГ в мкМО/мл (µIU/ml)

| Зразок | N | x | δ | C.V., % |
|--------|----|-------|------|---------|
| Пул 1 | 24 | 0.37 | 0.03 | 8.1 |
| Пул 2 | 24 | 6.75 | 0.43 | 6.4 |
| Пул 3 | 24 | 29.30 | 1.94 | 6.6 |

ТАБЛИЦЯ 9

Точність між аналізами

| Зразок | N | x | δ | C.V., % |
|--------|----|-------|------|---------|
| Пул 1 | 10 | 0.43 | 0.04 | 9.3 |
| Пул 2 | 10 | 6.80 | 0.54 | 7.9 |
| Пул 3 | 10 | 28.40 | 1.67 | 5.9 |

*вимірювання проводились в десяти експериментах в дублях протягом 7 днів.

14.2 Чутливість

Чутливість методу для Тироксину загального - 100 пг (pg), що еквівалентно зразку з концентрацією 0.4 мкг/дл (µg/dl). Межа виявлення визначена статистично як концентрація, відповідна значенню оптичної щільності нульового стандарту (мкг/дл (µg/dl)) плюс 2σ (σ-стандартне відхилення) при 95% довірчому інтервалі.

Чутливість методу для Трийодтироніну загального - 0.04 нг/мл (ng/ml). Чутливість була встановлена шляхом визначення варіабельності калібратора сироватки 0 нг/мл (ng/ml) і використання статистики 2σ (95% вірогідності) для розрахунку мінімальної дози.

Чутливість ТТГ (межа виявлення) була встановлена шляхом визначення варіабельності калібратора сироватки 0 мкМО/мл (µIU/ml) і використання статистики 2σ (95% вірогідності) для розрахунку мінімальної дози: для 1 год інкубації = 0.078 мкМО/мл (µIU/ml).

14.3 Достовірність

Тест-систему Тиреоїдна панель AccuBind® ІФА порівнювали з референсними імуноферментними методами. Виведено рівняння регресії та коефіцієнт кореляції для даного методу та референсних методів. Дані наведені в Таблицях 10-12.

ТАБЛИЦЯ 10 (Тироксин загальний)

| Метод | Середнє (x) | Аналіз регресії найменших квадратів | Коефіцієнт кореляції |
|------------------|-------------|-------------------------------------|----------------------|
| Цей метод | 8.07 | $y = 0.39 + 0.952(x)$ | 0.934 |
| Референсний | 8.06 | | |
| Діапазон значень | 0.8-25 | Кількість: 131 | |

ТАБЛИЦЯ 11 (Трийодтиронін загальний)

| Метод | Середнє (x) | Аналіз регресії найменших квадратів | Коефіцієнт кореляції |
|------------------|-------------|-------------------------------------|----------------------|
| Цей метод | 1.62 | $y = 3.8 + 0.947(x)$ | 0.987 |
| Референсний | 1.68 | | |
| Діапазон значень | 0.15-8.0 | Кількість: 120 | |

ТАБЛИЦЯ 12 (ТТГ)

| Метод | Середнє (x) | Аналіз регресії найменших квадратів | Коефіцієнт кореляції |
|------------------|-------------|-------------------------------------|----------------------|
| Цей метод | 4.54 | $y = 0.47 + 0.968(x)$ | 0.995 |
| Референсний | 4.21 | | |
| Діапазон значень | 0.01-61 | Кількість: 241 | |

Близькість середніх значень вказує лише на незначну похибку між цим методом і референсним методом. Рівняння регресії найменших квадратів і коефіцієнт кореляції вказують на чудову узгодженість методу.

14.4 Специфічність

Перехресну реактивність антитіл, використаних з вибраними речовинами, оцінювали шляхом додавання інтерферуючої речовини до сироваткової матриці в різних концентраціях. Перехресну реактивність розраховували шляхом отримання співвідношення між дозою інтерферуючої речовини та дозою тиреоїдного гормону, необхідного для витіснення такої ж кількості індикатора.

ТАБЛИЦЯ 13 - Тироксин загальний

| Речовина | Перехресна реактивність | Концентрація |
|------------------|-------------------------|--------------------|
| I-Тироксин | 1.0000 | - |
| d-Тироксин | 0.9800 | 10 мкг/дл (µg/dl) |
| d-Трийодотиронін | 0.0150 | 100 мкг/дл (µg/dl) |
| I-Трийодотиронін | 0.0300 | 100 мкг/дл (µg/dl) |
| Йодотирозин | 0.0001 | 100 мкг/мл (µg/ml) |
| Дийодотирозин | 0.0001 | 100 мкг/мл (µg/ml) |
| Дийодотиронін | 0.0001 | 100 мкг/мл (µg/ml) |

ТАБЛИЦЯ 14 - Трийодтиронін загальний

| Речовина | Перехресна реактивність | Концентрація |
|------------------|-------------------------|-------------------|
| I-Трийодотиронін | 1.0000 | - |
| I-Тироксин | < 0.0002 | 10 мкг/мл (µg/ml) |
| Йодотирозин | < 0.0001 | 10 мкг/мл (µg/ml) |
| Дийодотирозин | < 0.0001 | 10 мкг/мл (µg/ml) |
| Дийодотиронін | < 0.0001 | 10 мкг/мл (µg/ml) |
| Фенілбутазон | < 0.0001 | 10 мкг/мл (µg/ml) |
| Саліцилат натрію | < 0.0001 | 10 мкг/мл (µg/ml) |

ТАБЛИЦЯ 15 - ТТГ

| Речовина | Перехресна реактивність | Концентрація |
|--------------------------|-------------------------|--------------------|
| Тиреотропін | 1.0000 | - |
| Фолітропін | < 0.0001 | 1000 нг/мл (ng/ml) |
| Лютропін гормон | < 0.0001 | 1000 нг/мл (ng/ml) |
| Хоріонічний гонадотропін | < 0.0001 | 1000 нг/мл (ng/ml) |



ВИРОБНИК

| | |
|--|--|
| <i>MONOBIND INC.</i> | <i>МОНОБАЙНД ІНК</i> |
| <i>100 North Pointe Dr.</i> | <i>100 Норд Поінт Драйв</i> |
| <i>Lake Forest, CA 92630 - USA</i> | <i>Лейк Форест, Каліфорнія 92630 - США</i> |
| <i>Phone: 949.951.2665</i> | <i>Тел.: 949.951.2665</i> |
| <i>Fax: 949.951.3539</i> | <i>Факс: 949.951.3539</i> |
| www.monobind.com | www.monobind.com |



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

