

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА (TSH)

EIA-4171, TSH ELISA

Каталог. № : EIA-4171
Количество : 96
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 23-07-2015
Версия 9.0



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

Не предназначен для обследования новорожденных

1. ВВЕДЕНИЕ

1.1 НАЗНАЧЕНИЕ

Для количественного определения концентрации тиреотропина в человеческой сыворотке.

2. ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимые реагенты для иммуноферментного анализа включают высоко аффинные и специфические антитела (энзимные и иммобилизованные) с разным и отдельным использованием эпитопа, в избытке, и нативный антиген. В этой процедуре имеет место иммобилизация во время анализа на поверхности микропланшета через взаимодействие анти-ТТГ, привитого к лункам и эндогенно добавленное моноклональное анти-ТТГ антитело.

После смешивания имеет место реакция между фиксированным моноклональным антителом, фермент-меченным вторичным антителом. Реакция между нативным антигеном и антителами, без конкурирования или стерической помехи для формирования сэндвич комплекса.

После того, как достигнуто равновесие, антитело-связанная фракция отделяется от несвязанного антигена декантацией или аспирацией. Ферментативная активность в антитело-связанной фракции прямо пропорционально концентрации нативного антигена. При использовании нескольких разных установленных сывороток с известным значением антигена, строится стандартная кривая из которой могут быть получены неизвестные образцы.

3. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

- Для диагностики in vitro.
- Относительно информации по безопасности, которые включены в набор, следуйте листу данных по безопасности.
- Этот набор может содержать реагенты, приготовленные из человеческой сыворотки или плазма. Использованные сыворотка или плазма тестировались методом, утвержденным FDA, и найдено, что они не содержат антител к ВИЧ-1/2, HCV и HBsAg. Тем не менее, так как не существует метода, дающего полную гарантию отсутствия ВИЧ, HCV, вируса гепатита В или каких-либо других инфекционных агентов, то с данными реагентами надо обращаться как с потенциально инфекционно-опасным материалом.
- Избегайте контактов с кислотой стоп раствора. Это может привести к раздражению кожи и ожогам.
- Не пипетируйте ртом и избегайте контакта кожи и слизистых с реагентами.
- Не курите, не пейте, не ешьте и не применяйте косметику в местах работы с реагентами.
- Используйте одноразовые перчатки при обращении с образцами и реагентами. Микробиологическое загрязнение реагентов или образцов может влиять на результаты.
- Обращайтесь с реагентами согласно правилам безопасности.
- Не используйте реагенты после истечения срока пригодности.
- Необходимо придерживаться всех объемов, описанных в инструкции. Оптимальные тестовые результаты получают при использовании калиброванных пипеток.
- Не смешивайте компоненты разных наборов. Не рекомендуется менять местами лунки разных планшеток даже от одного набора. Наборы могут транспортироваться разными способами, поэтому допускается незначительное различие.
- Химикалии и приготовленные или использованные реагенты необходимо обрабатывать согласно требованиям безопасности.

- Лист данных безопасности доступен по требованию.

4. РЕАГЕНТЫ

4.1 Материалы, входящие в состав набора:

1. **Микропланшет**, 12 x 8 (делимых) стрипов, 96 лунок. Лунки покрыты моноклональным антителом к анти-ТТГ.
2. **Стандарт (0-5)**: 0,4 мл, 6 флаконов, готовы к использованию; Концентрации: 0-0.25-0.75-2.0-5.0-15 мЕд/л. Стандарты калиброваны относительно Интернационального Стандарта 81/565; Содержат консерванты.
3. **Контроли Низкий и Высокий**, 2 флакона, 0,4 мл каждый, готовы к использованию; Объемы и диапазоны указаны на этикетке. Содержат консерванты.
4. **Ферментный конъюгат**, 1 флакон, 12 мл, готов к использованию. Антитело к анти-ТТГ, конъюгированное с пероксидазой хрена. Содержит консерванты.
5. **Раствор субстрата**, 1 флакон, 12 мл, готов к использованию, ТМБ.
6. **Стоп-раствор**, 1 флакон, 14 мл, готов к использованию, содержит 0,5 М H₂SO₄. Избегать контакта со стоп-раствором, он может вызвать раздражения кожи и ожоги.
7. **Промывочный раствор**, 1 флакон, 25 мл (40X), см. "Приготовление реагентов".

Примечание: Дополнительный 0 стандарт для разбавления образцов предоставляется по запросу.

4.2 Необходимые, но не поставляемые материалы

- Калиброванный микропланшетный ридер, способный проводить измерения при (450 нм ± 10 нм).
- Калиброванные точные микропипетки сменного размера.
- Промокательная бумага.
- Дистиллированная вода или деионизированная вода.
- Таймер.
- Полулогарифмическая бумага или ПО для обработки данных.

4.3 Условия хранения

Если хранить при 2-8 °C неповрежденные реагенты будут сохранять свою активность до окончания срока годности. Не используйте реагенты после срока годности.

Все вскрытые реагенты должны храниться при 2-8 °C. Микропланшет необходимо хранить при 2-8 °C. Как только пакет из фольги был открыт, следует быть внимательным, чтобы его снова плотно закрыть.

Вскрытые наборы сохраняют активность в течение 2 месяцев при соблюдении вышеуказанных условий хранения.

4.4 Приготовление реагентов

Перед использованием приведите все реагенты и требуемое количество лунок, что будут использоваться к комнатной температуре.

Промывочный раствор

Добавить деионизированной воды к 40x концентрированному промывочному раствору. Разбавить 25 мл концентрированного промывочного раствора 975 мл деионизированной воды до конечного объема 1000 мл. *Разбавленный промывочный раствор стабилен 2 недели при комнатной температуре.*

4.5 Уничтожение набора

Уничтожение набора необходимо делать согласно требованиям по безопасности. Специальная информация для данного продукта указана в листе данных по безопасности.

4.6 Повреждение набора

При повреждении набора или компонентов, необходимо уведомить производителя в течении 1 недели после получения набора. Поврежденные компоненты не должны использоваться в анализе. Их необходимо хранить до получения замены, после чего уничтожить.

5. СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для анализа должна использоваться сыворотка или гепариновая плазма.

Для сравнения с установленными нормальными значениями необходимо использовать образцы сыворотки, полученные утром натощак.

Не используйте для анализа гемолизированные, иктерические и липемические пробы. Не использовать образцы, содержащие азид натрия.

5.1 Сбор образцов

Сыворотка:

Соберите кровь венепункцией (напр. Sarstedt Monovette), дайте возможность свернуться и отделите сыворотку центрифугированием

при комнатной температуре. Не центрифугировать до полного свертывания.

Плазма:

Провести забор цельной крови в центрифужные пробирки, содержащие антикоагулянт, и центрифугировать немедленно после забора.

5.2 Подготовка и хранение образцов

Образцы должны быть закрытыми и храниться до 5 дней при 2-8 °С. При более длительном хранении (до 30 дней) образцы должны быть заморожены до -20 °С и хранить до проведения анализа. Размороженные образцы переверните несколько раз перед анализом.

5.3 Разбавление образцов

Образцы с начальными значениями высшими, чем наивысший стандарт необходимо разбавить 0 стандартом и повторно анализировать.

Для вычисления концентрации необходимо учесть этот фактор разбавления.

Например:

- Разбавление 1:10: 10 мкл сыворотки + 90 мкл 0 стандарта (тщательно перемешайте);
- Разбавление 1:100: 10 мкл разбавления «1:10» + 90 мкл 0 стандарта (тщательно перемешайте)

6. ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

6.1 Основные замечания

- Перед использованием выдержите все реагенты при комнатной температуре. Тщательно перемешайте все реагенты и образцы перед использованием, легко переворачивая без образования пены.
- После начала теста все этапы нужно выполнять без перерывов.
- Используйте каждый раз новые пластиковые пипетки для каждого стандарта, образца и контроля для предотвращения перекрестного загрязнения.
- Абсорбция является функцией времени инкубации и температуры. Приготовьте все необходимое перед началом теста, чтобы не тратить время во время самого теста.
- В основном ферментативная реакция является линейно пропорциональной времени и температуре.

6.2 Процедура анализа

В каждом анализе следует использовать калибровочную кривую.

1. Пометьте стрипы, которые будут использованы.
2. Пипеткой внесите по **25 мкл** каждого стандарта, контроля и образца, используя новые наконечники, в соответствующие лунки планшета.
3. Инкубируйте в течение **10 минут** при комнатной температуре.
4. Добавьте по **100 мкл ферментного конъюгата** в каждую лунку планшета. Тщательно перемешивайте на протяжении **10 секунд**. Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
5. Инкубируйте в течении **90 минут** при комнатной температуре.
6. Резко встряхните содержимое лунок. Промойте разведенным промывочным раствором **5 раз (300 мкл на лунку)**. Резко встряхните планшет над промокательной бумагой и промокните остатки влаги.
Важное замечание: Чувствительность и точность анализа зависит от правильного исполнения процедуры промывания!
7. Добавьте по **100 мкл** раствора субстрата в каждую лунку.
8. Инкубируйте **20 минут** при комнатной температуре.
9. Остановите ферментативную реакцию добавлением **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку.
10. Измерьте на микротитрационном планшет-ридере оптическую плотность каждой лунки при **450 нм ± 10 нм** в течении **5 минут** после добавления стоп-раствора.

Желательно проводить считывание результатов сразу же после остановки реакции, так как OD_{450nm} может немного увеличиться с течением времени.

6.3 Вычисление результатов

1. Вычислите среднюю абсорбцию для каждого стандарта, контроля и образца.
2. Постройте стандартную кривую откладывая среднюю абсорбцию полученную для каждого стандарта против его концентрации при значении абсорбции на оси У и концентрации на оси Х.
3. Используя значение средней абсорбции для каждого образца, определите соответствующую концентрацию на стандартной кривой.

4. Автоматические данные, компьютерные программы, кубический сплайн, 4 PL или логарифмический также дают хорошие результаты.
5. Концентрация образцов может считаться со стандартной кривой. Образцы с концентрацией выше чем концентрация наивысшего стандарта необходимо разбавить или рассматривать как > 15 мМЕд/л. При вычислении концентрации этот фактор разбавления необходимо учитывать.

6.3.1 Типичный пример стандартной кривой:

Следующие данные являются только демонстрационными и не могут использоваться вместо данных, полученных при анализе.

Стандарт	мМЕд/л	Оптич. единицы (450 нм)
Стандарт 0	0	0,01
Стандарт 1	0,25	0,04
Стандарт 2	0,75	0,11
Стандарт 3	2,0	0,32
Стандарт 4	5,0	0,81
Стандарт 5	15,0	2,27

7. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ НОРМЫ

Немецкие директивы тиреоидной диагностики рекомендуют диапазон нормы в пределе 0,3 – 4,0 мЕд/л.

Важно помнить, что установленные границы ожидаемых значений для «нормальной» популяции зависят от многих факторов: специфичность метода, тестируемой популяции, точности метода. Поэтому, каждая лаборатория должна устанавливать собственные границы.

8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контроли согласно государственным и федеральным правилам. Использование контроля дает возможность повседневной оценки достоверности результатов. Используйте контроли и нормального уровня, и патологического.

Контроли и соответствующие результаты QC лаборатории указаны в QC сертификате, что поставляется с набором. Величины, указанные в данном сертификате соответствуют лоту набора и должны использоваться для сравнения результатов.

Также рекомендуется использовать национальные и международные программы оценки качества для подтверждения достоверности результатов.

Используйте соответствующий статистический метод для анализа величин контроля. Если результаты анализа не попадают в установленные границы материалов контроля, результаты являются не достоверными.

В таком случае проверьте следующие данные: устройства пипетирования и измерения времени; фотометр; даты пригодности реагентов, условия хранения и инкубации, методы аспирации и промывания.

Если не обнаружено ошибки, обратитесь к Вашему поставщику.

9. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 динамический диапазон анализа

Диапазон настоящего анализа в пределах 0,06 – 15 мМЕд/л.

9.2 Специфичность антител (перекрестная реактивность)

Перекрестная реактивность тиреотропина в ИФА методе к выбранному веществу была оценена добавлением влияющих веществ к сывороточной основе при разных концентрациях.

100 000 мМЕ/мл	ХГЧ
100 мМЕ/мл	ФСГ
100 мМЕ/мл	ЛГ

9.3 Чувствительность

Аналитическая чувствительность была вычислена путем добавления 2 стандартных отклонений к среднему от анализа 20 репликантов 0 стандарта и составила 0,06 мМЕ/л.

9.4 Воспроизводимость

9.4.1 Точность в анализе

Вариабельность в анализе указана ниже:

Образец	Число	Среднее	КВ, %
1	18	0,95	3,88
2	18	3,26	3,16
3	18	8,79	3,36

9.4.2 Точность между анализами

Вариабельность между анализами указана ниже:

Образец	Число	Среднее	КВ, %
1	4	1,18	9,17
2	4	3,29	5,33
3	4	9,05	3,32

9.5 Сравнительные исследования

Корреляция между системой параметров тиреотропного гормона Abbott Architect и настоящей тест-системой:

		Abbott Architect (TSH)	
		Положит.	Отрицат.
Набор анализа TSH EIA-4171	Положит.	17	0
	Отрицат.	7	46

К-во: 70

Чувствительность: 70,8%

Специфичность: 100%

Положит. PDW: 100%

Отрицат. PDW: 86,8%

10. ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Надежные и продуктивные результаты будут получены при проведении анализа в соответствии с инструкциями.

10.1 Интерферирующие субстанции

Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0.5 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не влияют на результаты.

10.2 Интерференция лекарственных препаратов

Значения сывороточного тиреотропина могут быть завышенными из-за приема лекарственных препаратов. Домперидон, амиодазон, йодид, фенобарбитал и фенитоин влияют на повышение уровней ТТГ. На понижение уровней ТТГ влияют пропранолол, метимазол, допамин и д-тироксин (4).

10.3 Эффект "высокой дозы"

Эффект "Высокой дозы" не наблюдался при значениях ТТГ до 2000 мЕд/л.

11. ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

11.1 Достоверность результатов

Тест должен проводиться согласно инструкции производителя. Более того, потребитель должен точно соблюдать все правила профессиональной лабораторной практики или другие соответствующие национальные стандарты и/или законы. Это особенно относится к контрольным реагентам. В процессе проведения анализа важно включать достаточное количество контролей для оценки точности теста. Результаты теста действительны, только если они отвечают нормам и если все параметры теста отвечают спецификации теста. В случае любого сомнения свяжитесь с производителем.

11.2 Терапевтические заключения

Терапевтические заключения не должны базироваться только на результатах лабораторных исследований, даже если они считаются достоверными согласно п. 11.1. Любой результат является только частью общей клинической картины пациента. Диагностика инфекционного заболевания не может устанавливаться только на основе единственного результата анализа. Точная диагностика должна учитывать всю клиническую картину пациента (историю, симптомы, сывороточные данные). Только в случаях, когда лабораторные результаты совпадают с нормами и общей картиной пациента, можно делать терапевтическое заключение. Только результаты этого теста не могут быть основой для терапевтического заключения.

11.3 Ответственность

Любое изменение набора и/или замена компонентов разных лотов из одного набора на другой может негативно влиять на результаты и весь тест. Такая замена не может быть основой для претензий или просьбы о замене набора.

Претензии в случаях неправильного использования набора лабораторией согласно п.11.2 тоже не могут являться действительными. Производитель не несет ответственности за любое повреждение набора, случившееся вследствие его неправильной транспортировки.



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