

СР	7041/2007
	11.10.2012

Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.

Інструкція
з використання тест-системи
для визначення антитіл до ТПО в сироватці крові
АТ-ТПО – ІФА

IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип непрямого імуноферментного аналізу. У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (тиреопероксидаза) вносять досліджуваний зразок. АТ до ТПО із зразка зв'язується з антигеном на поверхні лунки. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. У лунку вносять кон'югат (антитіла проти IgG людини, мічені пероксидазою). Після повторної відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату, та вимірюється при довжині хвилі 450 нм.

Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості АТ до ТПО у зразку.

Клінічне значення

Антитіла до тиреоїдної пероксидази (ТПО) – антитіла ферменту, який є основним компонентом мікросом ендоплазматичного ретикулума клітини. До недавнього часу ці антитіла іменувалися антимікросомальні (МА), оскільки вони зв'язуються з мікросомальною частиною тиреоцитів. ТПО каталізує процес йодування тирозину в тиреоглобуліні в процесі біосинтезу Т3 і Т4. АТ до ТПО пригнічують ферментативну активність, лізують тиреоцити, що веде до зниження продукції тиреоїдних гормонів у ЩЗ.

В залежності від етапу захворювання може спостерігатися гіпо-, гіпер- або еутиреоїдна стадія. Визначення антитіл до ТПО, проводиться для оцінки вираженості аутоімунних реакцій при захворюваннях щитовидної залози. У пацієнтів зі спадковою схильністю, а також при інших аутоімунних ендокринних захворюваннях, включаючи цукровий діабет 1-го типу, аутоімунний адреналіт (хвороба Аддисона), а також перніціозну анемію, існує ризик появи аутоімунного тиреоїдиту, тому моніторинг антитіл до тиреоглобуліну та тиреопероксидази є важливим діагностичним критерієм. Бажано визначати АТ до ТГ разом з АТ до ТПО. Однак, поява даних антитіл не пов'язана між собою, і в одних пацієнтів може зустрічатися підвищення тільки рівня АТ до ТГ, а в інших - тільки рівня АТ до ТПО. Наявність антитіл до ТПО і підвищений рівень ТТГ дозволяють прогнозувати розвиток гіпотиреозу в майбутньому. Визначення антитіл до ТПО застосовують для диференціальної лабораторної діагностики аутоімунного та неаутоімунного тиреотоксикозу з подібною клінічною симптоматикою (тахікардія, втрата маси тіла, стан тривоги і т.д.).

Підвищення рівня АТ до ТПО виявляють в більшості випадків тиреоїдита Хашимото, хвороби Грейвса та ідіопатичній мікседемі, ювенільному лимфоцитарному тиреоїдиті, хронічному фіброзному варіанті тиреоїдиту, атрофічному асимптоматичному тиреоїдиті та синдромі Шмітта. Визначення підвищених значень АТ до ТПО у жінок під час перших місяців вагітності є фактором ризику виникнення тиреоїдиту у післяпологовому періоді. Високий рівень АТ до ТПО може визначатися при лікуванні амідароном.

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

В сироватці крові здорових людей можуть бути виявлені антитіла до ТПО в низьких титрах.

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. ІФА буфер, 22 мл (2 фл.)
4. Набір калібраторів та контролю по 1.0 мл (всього 5 калібраторів: 0, 30, 100, 300, 1000 МОд/мл; 1 контроль)
5. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
6. Кон'югат, 11 мл (1фл.)
7. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
8. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 5 МОд/мл.

Очікуванні коливання контролю: 110-160 МОд/мл.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.
3. **УВАГА!** Розбавте всі зразки ІФА буфером в 101 раз (5 мкл сироватки додайте до 500 мкл ІФА буферу синього). Не розбавляйте калібратори та контроль! Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібрувальної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи ІФА буфер.

Проведення аналізу

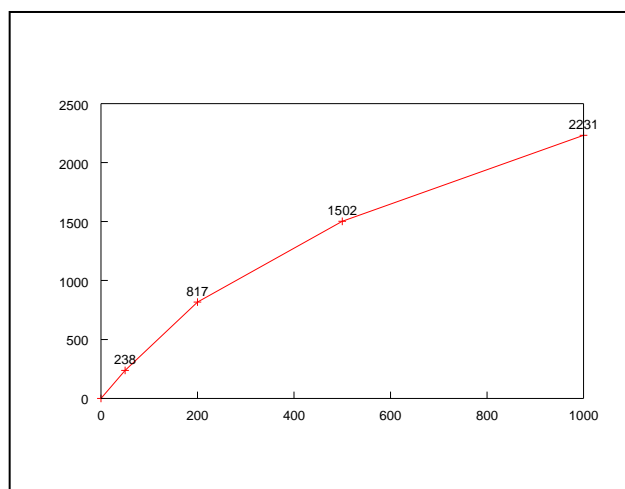
1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 100 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
3. Інкубуйте 30 хвилин при температурі 20-25°C.
4. Відмийте стрипи 3 рази відмиваючим розчином.
5. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
6. Інкубуйте 30 хвилин при температурі 20-25°C.
7. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
8. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
9. Інкубуйте **20-25** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
10. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
11. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти нульового калібратора.
12. Використовуйте кусково-лінійний метод обчислювання значень.
13. Визначте концентрацію АТ до ТПО в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Примітка

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в **двох паралелях (повторах)**.
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, МОд/мл; вісь Y – ОЩ)

Не використовувати для обчислювання!



Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Стать, вік	верхня межа, МОд/мл
Чоловіки	30
Жінки до 50 років	30
Жінки після 50 років	50

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°C. Не допускається замороження!

Після розкриття пакета **ретельно заклейте** лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантія виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61050, м. Харків
ул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт

Тест-система для визначення антитіл до ТПО в сироватці крові

АТ-ТПО – ІФА

IN VITRO

Серія **697-2**

Дата виготовлення **20.12.2012**

Термін придатності **20.06.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	Чутливість не менш, МОд/мл	5		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, МОд/мл	110-160		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	ІФА буфер	синій	2 фл. x 22 мл	відповідає
2.4	Набір калібраторів та контролю (всього 5 калібраторів: 0, 30, 100, 300, 1000 МОд/мл; 1 контроль)	червоний	6 фл. x 1 мл	відповідає
2.5	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. x 22 мл	відповідає
2.6	Кон'югат	червоний	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.7	Субстрат	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.8	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002