

ЕΙΑ-4171 ТСХ ЕЛАЙЗА ТЕСТ

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

ТСХ тестът на DRG е ензимен имунологичен тест за количествено ин витро диагностично измерване на ТСХ в серум или хепаринизирана плазма.

ПРИНЦИП НА ТЕСТА

Количеството на свързаната пероксидаза при реакцията и наситеността на получения цвят са пропорционални на концентрацията на ТСХ в пробата.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Тестът е само за ин витро употреба. За професионална употреба.
2. Всички реактиви, които съдържат човешки серум или плазма са тествани и потвърдено негативни за HIV I/II, HBsAg и HCV с утвърдени от FDA процедури. Въпреки това третирайте всички реактиви като потенциално биологично опасни при работа и изхвърляне.
3. Преди да започнете тестовата процедура, прочетете изцяло и внимателно инструкциите. Използвайте актуалната версия на инструкцията за употреба, приложена в опаковката на теста. Уверете се, че сте разбрали всичко.
4. Плаката е с чупещи се стрипове. Неизползваните ямки трябва да се съхраняват от 2-8°C в запечатаната опаковка от фолио и да се използват в осигурената рамка.
5. Пипетирането на пробите и реактивите трябва да се прави възможно най-бързо и в една и съща последователност при всяка стъпка.
6. Използвайте резервоари само за готовите реактиви. Това се отнася особено за субстратите. Ако използвате за на капване на субстрат резервоар, който преди това е използван за конюгат, може да се получи оцветяване на разтвора. Не връщайте останали реактиви в оригиналните ми опаковки, за да не се получи замърсяване на реактивите.
7. Размесвайте напълно съдържанието на ямките, за да си гарантирате добри резултати от теста. Не използвайте ямки повторно.
8. Не оставяйте ямките да изсъхнат по време на процедурата, добавяйте реактивите веднага след стъпките с миенето.
9. Изчакайте реактивите да постигнат стайна температура 21-26°C преди да започнете процедурата. Температурата ще повлияе на отчетените абсорбции. Обаче стойностите на пациентите няма да се повлияят.
10. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте контакт с кожата и лигавиците.
11. Не пушете, не яжте, не пийте и не се гримирайте в близост до пробите и реактивите.
12. Използвайте латексови ръкавици за еднократна употреба, когато боравите с пробите и реактивите. Микробното замърсяване на реактивите или пробите може да доведе до фалшиви резултати.
13. Боравенето с пробите и реактивите трябва да се извършва с процедурите, определени в националните насоки и регулации относно биологично опасните материали и отпадъци.
14. Не използвайте реактивите след изтичане на срока на годност, посочен на опаковката.
15. Всички посочени обеми трябва да се спазват. Оптимални резултати от теста могат да се получат само когато се използват калибрирани пипети и елайза рийдери.
16. Не смесвайте и не използвайте компоненти от китове с различни партидни номера. Препоръчва се да не се смесват ямки от различни плаки дори и от една партида. Китовите може да са транспортирани или съхранявани при различни условия и свързващите характеристики на плаките може да варират леко.
17. Избягвайте контакт със стоп-разтвора, който съдържа 0.5 М сярна киселина и може да предизвика раздразнение или изгаряне по кожата.

18. Някои реактиви може да съдържат като консерванти Proclin, BND и/или MIT. При контакт с очите или кожата измийте обилно с вода.
19. TMB субстратът може да причини дразнене по кожата или лигавиците. В случай на контакт, измийте очите с обилно количество вода, а кожата – обилно с вода и сапун. Измийте замърсените предмети, преди да ги използвате отново. В случай на вдишване изведете човека на свеж въздух.
20. Химикалите и приготвените или използвани реактиви трябва да се третират като опасни отпадъци според националните разпоредби за боравенето с тях.
21. За информация за опасните вещества, включени в кита, направете справка с Листа за безопасност на съответния тест.

РЕАКТИВИ

1. **Микротитърни ямки** 12x8 (чупещи се) стрипа, 96 ямки
Ямките са покрити с анти-ТСХ (моноклонално)
2. **Стандарти (0-5)**, 6 шишенца, 0.4 мл всеки, готови за употреба
Концентрации: 0 – 0.25 – 0.75 – 2.0 – 5.0 – 15 mIU/L
Стандартите са калибрирани по международния стандарт на СЗО TSH IRP (81/565) Съдържат консерванти
3. **Контроли, нисък и висок**, 2 шишенца, 0.4 мл всеки, готови за употреба
Стойностите и обхватите на контролите са посочени на етикетите на шишенцата или в листа със стойности за качествен контрол. Съдържат консерванти
4. **Ензимен конюгат**, 1 шишенце, 12 мл, готов за употреба
Анти-ТСХ антитела конюгирани до пероксидаза. Съдържа консервант
5. **Субстрат разтвор**, 1 шишенце, 12 мл, готов за употреба
Тетраметилбензидин (TMB)
6. **Стопиращ разтвор**, 1 шишенце, 14 мл, готов за употреба
Съдържа 0.5 М сярна киселина
7. **Миеш разтвор**, 1 шише, 25 мл (концентрат 40X)
Вижте „Подготовка на реактивите“
Забележка: Допълнителен Стандарт 0 е наличен при заявка.

МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ОСИГУРЕНИ

- Елайза рийдер, калибриран (450 nm±10 nm)
- Калибрирани пипети
- Попиваща хартия
- Дестилирана или дейонизирана вода
- Таймер
- Милиметрова хартия за чертаене или софтуер за обработка на данни.

УСЛОВИЯ НА СЪХРАНЕНИЕ

Когато се съхраняват при 2-8 °C неотворените реактиви запазват реактивността си до изтичане на срока на годност. Не използвайте реактиви след срока на годност. Отворените реактиви трябва да се съхраняват при 2-8 °C. Микротитърните плаки трябва да се съхраняват при 2-8 °C. След отваряне на опаковката от фолио, затваряйте грижливо и плътно всеки път. Отворените китове запазват активността си два месеца, ако се съхраняват според указанията.

ПОДГОТОВКА НА РЕАКТИВИТЕ

Поставете всички реактиви и нужния брой ямки на стайна температура преди употреба.

Миеш разтвор

Добавете дейонизирана вода на концентрирания 40X миеш разтвор.

Разредете 25 мл от концентрирания миеш разтвор с 975 мл дейонизирана вода, за да получите 1000 мл. Разреденият миеш разтвор е стабилен 2 седмици на стайна температура.

СЪБИРАНЕ И ПОДГОТОВКА НА ПРОБИТЕ

С този тест може да се използва серум или хепаринизирана плазма.

За точно сравнение с установените нормални стойности трябва да се използва серумна проба, взета сутрин, на гладно. Не използвайте хемолитични, иктерични или липемични проби. Забележка: проби, съдържащи натриев азид, не трябва да се тестват с този кит.

СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

В затворени контейнери пробите могат да се съхраняват до 5 дни при 2-8°C преди да се тестват.

При необходимост от съхранение на пробите за по-дълги периоди (до 30 дни) те трябва да бъдат замразени еднократно при -20°C. Размразените проби трябва да се обърнат нагоре-надолу няколко пъти, преди да се тестват.

Разреждане на пробите:

Ако при първоначално тестване някоя проба е по-висока стойност от най-високия стандарт, трябва да бъде разреждана отново със стандарт 0 и измерена отново.

Пример:

- а) разреждане 1:10 – 10 микролитра проба+90 микролитра Стандарт 0 (размесете добре)
- б) разреждане 1:100 – 10 микролитра разреждана проба+90 микролитра Стандарт 0 (размесете добре)

ПРОЦЕДУРА

Всяка серия трябва да включва стандартна крива.

1. Поставете желаните брой ямки в държача.
2. Пипетирайте **25 µl** от всички **стандарты, контроли и проби** в съответните ямки, като използвате ново връхче за всяка ямка.
3. Инкубирайте на стайна температура **10 минути**.
4. Пипетирайте **100 µl ензимен конюгат** във всяка ямка. Размесете добре 10 секунди. Доброто размесване на този етап е много важно.
5. Инкубирайте **90 минути** на стайна температура.
6. С рязко изтупване изпразнете съдържанието на ямките. Измийте ямките **5 пъти** с разреждания **Миеш разтвор** (300 µl на ямка. Изтупайте рязко върху попиваща хартия, за да отстраните останалите капчици.

Забележка:

Чувствителността и точността на теста се повлияват значително от неправилно изпълнение на процедурата с миенето.

7. Добавете **100 µl субстрат** във всяка ямка.
8. Инкубирайте на стайна температура **20 минути**.
9. Спрете ензимната реакция като добавите 100 µl стопиращ разтвор във всяка ямка.
10. Измерете абсорбцията на всяка ямка при 450 nm ± 10 nm с елайза рийдер.

Препоръчително е отчитането да стане **до 5 минути** след добавянето на стопиращия разтвор.

За предпочитане е отчитането да стане веднага след добавянето на стопиращия разтвор, тъй като абсорбцията може да се промени леко с течение на времето.

ИЗЧИСЛЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средната абсорбция на стандартите, контролите и пробите.
2. На милиметрова хартия конструирайте стандартна крива със стойностите на абсорбцията по вертикалната ос и на концентрациите по хоризонталната ос.
3. Като използвате средната абсорбция за всяка проба определете съответната концентрация от кривата.
4. Автоматичен метод: резултатите в инструкциите за употреба са изчислени автоматично с 4-параметрова крива. Други функции за преобразуване на данни може да дадат леко различни резултати.
5. Концентрацията на пробите може да бъде отчетена директно от стандартната крива. Пробите с концентрации над най-високия стандарт трябва да се разреждат или да се отчетат като >15 mIU/L. При изчисление на концентрациите трябва да се вземе предвид фактора на разреждане.

ПРИМЕР ЗА СТАНДАРТНА КРИВА

Стандарт	Оптични единици (450 nm)
Стандарт 0 (0 mIU/L)	0.01
Стандарт 1 (0.25 mIU/L)	0.04
Стандарт 2 (0.75 mIU/L)	0.11
Стандарт 3 (2.0 mIU/L)	0.32
Стандарт 4 (5.0 mIU/L)	0.81
Стандарт 5 (15.0 mIU/L)	2.27

ОЧАКВАНИ НОРМАЛНИ СТОЙНОСТИ

Силно се препоръчва всяка лаборатория да установи свои собствени нормални стойности.

Немските насоки при тироидна диагностика препоръчват обхват на нормални стойности от 0.3 до 4.0 mIU/L

Корелационно проучване на ТСХ за Абот Архитект и настоящия

ТСХ тест с измерени 70 проби показва нормален обхват за настоящия тест 0.5- 5.0 mIU/L (При Абот 0.35 – 4.94 mIU/L)

Серумната концентрация на тиротропин зависи от множество фактори: функция на хипоталамуса, функция на щитовидната жлеза, реакция на хипофизата към TRH. Поради това концентрацията на тиротропин сама по себе си не е достатъчна за оценка на клиничния статус.

Генетични вариации и разпадане на цял ТСХ на подединици може да повлияят на свързващите характеристики на антителата и на крайния резултат. Такива проби обичайно дават различни резултати заради реактивността на антителата.

Резултатите сами по себе си не трябва да бъдат основание за терапевтични действия. Резултатите трябва да бъдат разглеждани съвместно с други клинични наблюдения и диагностични тестове.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Динамичен обхват

Обхватът на настоящия тест е 0.06 – 15 mIU/L.

2. Специфичност на антителата

Няма кръстосана реактивност при:

До 100 000 mIU/L hCG

До 100 mIU/L hFSH

До 100 mIU/L hLH

3. Чувствителност

Аналитичната чувствителност на теста на DRG е изчислена с добавяне на 2 стандартни отклонения към средните стойности от 20 анализа с повторение на нулевия стандарт и е определена 0.06 mIU/L.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

Точни и възпроизводими резултати могат да се постигнат при разбиране и правилно изпълнение на процедурата и спазване на добрите лабораторни практики.

1. Интерфериращи вещества

Хемоглобин до 4 mg/ml, билирубин до 0.5 mg/ml и триглицериди до 30 mg/ml не оказват влияние на резултатите от теста.

2. Интерфериращи медикаменти

Стойностите на серумния тиротропин могат да се завишат от фармакологична интервенция. Домперидон, амиодазон, йодид, фенобарбитал и фенитоин водят до повишени нива на ТСХ. Понижени стойности на тиротропин се съобщават при приемане на пропранолол, метимазол, допамин и д-тиоксин.

3. Ефект на куката

Не се наблюдава ефект на куката при този тест до 2000 mIU/L ТСХ.

ПРОИЗВОДИТЕЛ:

DRG Instruments GmbH Germany
Frauenbergerstrasse 18, D-35039 Marburg
+49 6421-17000

www.drg-diagnostics.de