

ANTI-TYROGLOBULIN
PROTILÁTKY (anti-Tg)ELISA
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

kód 44796	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení anti-tyroglobulinových (Tg) protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.	

PRINCIP METODY

Anti-tyroglobulinové (anti-Tg) protilátky ze séra se váží na antigen navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (křenovou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgG) s protilátkami navázanými na povrchu jamky. Nakonec se přidává 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB) s H₂O₂ do každé jamky jako enzymový substrát. Vzniklá enzymatická barevná reakce je zastavena kyselinou. Žluté zabarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorbance je úměrná koncentraci protilátek ve vzorku¹.

Obsah a složení

- A. Koncentrovaný promývací roztok.** 50 mL. Koncentrovaný fosfátový pufr, azid sodný 15 mmol/l.
- B. Ředící roztok** 100 mL. Tris pufr 0,1 mol/l, azid sodný 15 mmol/l.
- C+. Pozitivní kontrola.** 1,5 mL. Ready to use. Sérum s anti-Tg protilátkami, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Lidské sérum bez anti-Tg protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- D. Konjugát** 15 mL. Křenovou peroxidázou značené polyklonální králíčí imunoglobuliny proti lidskému IgG.
- E. Substrát.** 15 mL. 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB).
- F. Zastavovací roztok. 15 mL. Kyselina fosforečná 4,5%.**
H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
P303 + P361 + P353 – PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.
- M. Mikrotitrační destičky:** 12 modulů po 8 rozlamovatelných jamkách s navázaným vysoce purifikovaným lidským thyroglobulinem.
- S1-S6. Anti-Tg standardy,** Každý po 1,5 mL. Ready to use. Anti-Tg lidské sérum, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace anti-Tg protilátek jsou: 0, 100, 300, 1000, 3000 a 9000 U/ml, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrováno proti Mezinárodnímu referenčnímu standardu WHO, kód: 65/93.

Pro další varování a doporučení – viz Karta bezpečnostních údajů (SDS).

Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a shledána negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potenciálně infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C. Reagenty jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno kontaminaci v průběhu jejich užívání.

Známky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Mikrotitrační destičky (M): natržení sáčku, makroskopické defekty, jako je poškrábání dna jamek.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Promývací pufr: Zředte koncentrovaný promývací pufr (A) destilovanou vodou v poměru 1/20. Pořádně promíchejte. Pro 1 strip se spotřebuje přibližně 50 ml promývacího reagentu. Roztok je stabilní 30 dnů při 2-8°C.

Ostatní činidla jsou připravena k přímému použití - ready to use.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- zvlhčovací komůrka
- promývací zařízení pro mikrotitrační destičky

- reader nebo fotometr s mikrokvetou a filtrem 450±10 nm.

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufr (B). Pro stanovení použijte vždy čerstvá ředění vzorku.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechna činidla na pokojovou teplotu. (Pozn.:1).
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami a vyjměte požadované množství pro stanovení (Poznámka 2).
3. **Postup práce:**
 - **Kvantitativní stanovení:** Pipetujte po 100 µL každého standardu (S1-S6), Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek.
 - **Kvalitativní stanovení:** Pipetujte 100 µL Standardu S3, Negativní kontroly (C-), Pozitivní kontroly (C+) a zředěného vzorku do odlišných jamek. Pipetujte 100 µL ředícího roztoku (B) jako blank.
4. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 30 minut.
5. Odsajte obsah jamek a jamky promyjte 3-krát po 300 µL promývacího pufru vždy po dobu nejméně 10 sekund (Poznámka 3 a 4).
6. Pipetujte do všech jamek 100 µL konjugátu (D).
7. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
8. Promyjte jamky podle odstavce č. 5.
9. Pipetujte 100 µL substrátu (E) do všech jamek.
10. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
11. Pipetujte 100 µL zastavovacího roztoku (F) do všech jamek a inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut. (Poznámka 5).
12. Odečtěte absorbanci jednotlivých jamek při 450 nm za použití S1 standardu nebo jamky blanku pro vynulování přístroje. Zbarvení je stabilní po dobu nejméně 30 minut.

VÝPOČET

Kvantitativní stanovení: Vyneste do grafu hodnoty absorbancí pro každý standard proti koncentraci anti TG v U/ml. Koncentrace protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka : 4-parametrická logistická).

Kvalitativní stanovení: Vypočtete absorbanci Cut-off následovně:

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3} \times 0,5$$

Vypočtete absorbanční poměr:

$$\text{Absorbanční poměr} = \frac{A_{450 \text{ nm}} \text{ Vzorku}}{A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off}}$$

Pokud jsou hodnoty absorbancí vyšší než je horní měřicí limit readeru, vzorky naředte reagentem (B) a stanovení opakujte.

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky, s koncentrací větší než 150 IU/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,2 jsou považovány za pozitivní. Vzorky, s koncentrací nižší než 100 IU/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní. Vzorky, s koncentrací mezi 100 až 150 IU/mL, nebo které mají absorbanční poměr mezi 1,0 až 1,2 jsou považovány za nejasné a

ANTI-TYROGLOBULIN
PROTILÁTKY (anti-Tg)ELISA
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

kód 44796 96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C
Reagenty pro stanovení anti-tyroglobulinových (Tg) protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.

doporučuje se opakování analýzy. Zvažte jiná testování pro diferenciální diagnózu.

Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí

KONTROLA KVALITY

Absorbance standardu S6 by měla být vyšší jak 1,300.

Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí od 800 do 1200 IU/mL a Negativní kontroly (C-) by měla být nižší jak 100 IU/mL.

Absorbanční poměr pro Negativní kontrolu (C-) by měl být nižší než 1,0.

Každá laboratoř by si měla stanovit svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

– Opakovatelnost (jednoho vzorku):

IU/mL	CV%	n
746	2,6	24
1398	2,4	24
4674	5,0	24

– Reprodukovatelnost (run to run):

IU/mL	CV%	n
746	5,7	30
1398	2,3	30
4674	4,0	30

– Detekční limit: 10 IU/mL

– Anti-Tg test je specifický pouze k protilátkám proti Tg. Nebyly pozorovány žádné zkřížené reakce k jiným antigenům.

– Interference: Hemoglobin do 1000 mg/dL, bilirubin do 40 mg/dL a triglyceridy do 3000 mg/dL neinterferují. Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat².

– Rozsah měření: 10-9000 IU/mL. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředte vzorek ředícím pufr (B) a zopakujte stanovení.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Anti-Tg protilátky se typicky nacházejí u pacientů s Hashimotovým onemocněním (80-90%), primárním hypotyreózou nebo myxedémem (80%), Gravesovým onemocněním (50-70%), diabetem melitus typu I (40%) a u těhotných žen (14%)^{3,4}. Kromě toho mohou být často zvýšeny u různých karcinomů, ale nemají zde žádný klinický význam³. Protilátky mohou být také detekovány společně s anti-TPO protilátkami v případě onemocnění: endemická strumózní subakutní tyroiditida, Addisonova nemoc, polyendokrinní autoimunitní onemocnění a u členů rodin náchylných k orgánové specifické autoimunitě. Nicméně, tyto protilátky mohou být také přítomny u 5-20% zdravých jedinců.^{3,5,6}

Senzitivita pro Hashimotovo a Gravesovo onemocnění byla pro BioSystems soupravu ve studii s 280 klinickými vzorky stanovena na 96,2% a specifita na 97,3%. Podrobnosti studie jsou dostupné na vyžádání.

Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKA

1. Nezaměňujte reagenty ze souprav různých šarží.
2. Skladujte nepoužité jamky v plastickém sáčku a uzavřete je společně s vysoušecím sáčkem.
3. Nepoškozujte vnitřní povrch mikrotitračních destiček.
4. Promývací roztok by měl být kompletně odstraněn z jamek.

M44796i-13

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)

Quality System certified according to
EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards

český překlad 06/2018/VE

05/2018

5. Zastavovací roztok (F) enzymové reakce musí být pipetován do jamek přibližně ve stejném časovém odstupu jako substrát (E) v odstavci č.9.

LITERATURA

1. Butler JE. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993
2. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000
3. Burek CL, Rose NR. Thyroglobulin autoantibodies. In: Peter JB, Shoenfeld Y. Autoantibodies. Elsevier. Amsterdam, 1996; 810-815
4. Høier-Madsen M, Feldt-Rasmussen U, Hegedüs L, Perrild H, Hansen HS. Enzyme-linked immunosorbent assay for determination of thyroglobulin autoantibodies. *Acta Pathol Microbiol Scand (C)* 1984; 92:377-382
5. Feldt-Rasmussen, U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. *Clin Chem* 1996; 42:160-163
6. Herold KC, Sarne DH. Autoimmune endocrine disorders. In: Lahita RG ed. Textbook of the autoimmune diseases, 1st edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2000; 377-406

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 14.6.2018

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.

Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese: www.biosystems.es.

Český návod je k dispozici na: www.iktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha5,

tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava,

tel.: + 421 264 774 591

V případě mimořádných událostí:

ČR : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a LF UK,

tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

SK : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05,

Limbová 5, tel.: +421 254 774 166