

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 антигенів щитовидної залози в сироватці крові**  
**АТ до ТГ, МА – ІФА**

### IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

#### Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип непрямого імуноферментного аналізу. У лунки планшета з іммобілізованими антигенами (ТГ, МА) вносять досліджуваний зразок. АТ до ТГ, МА із зразка зв'язуються з антигенами на поверхні лунок. 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 ТГ, МА у зразку.

#### Клінічне значення

Антитіла до тиреоглобуліну (ТГ) в сироватці – це антитіла до попередника гормонів щитовидної залози. Зв'язують ТГ, порушуючи синтез гормонів. Антитіла до мікросомального антигену (МА) – антитіла до мікросом ендоплазматичного ретикулума клітини, які містять тиреопероксидазу (ТПО). ТПО каталізує процес йодування тирозину в тиреоглобуліні в процесі біосинтезу Т3 і Т4. АТ до МА 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 ТГ, проводиться для оцінки вираженості аутоімунних реакцій при захворюваннях щитовидної залози. У пацієнтів зі спадковою схильністю, а також при інших аутоімунних ендокринних захворюваннях існує ризик появи аутоімунного тиреоїдиту, тому моніторинг антитіл до тиреоглобуліну та тиреопероксидази є важливим діагностичним критерієм. Бажано визначити 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. Також визначення антитіл до ТГ застосовують для диференціальної лабораторної діагностики аутоімунного та неаутоімунного тиреотоксикозу з подібною клінічною симптоматикою (тахікардія, втрата маси тіла, стан тривоги і т.д.).

Підвищення рівня антитіл до ТГ, МА виявляють в більшості випадків тиреоїдита Хашимото, хворобі Грейвса та ідіопатичній мікседемі, ювенільному лимфоцитарному тиреоїдиті, хронічному фіброзному варіанті тиреоїдиту, атрофічному асимптоматичному тиреоїдиті та синдромі Шмітта. Антитіла до ТГ виявляються у хворих раком щитовидної залози при наявності регіонарних метастазів. Визначення підвищених значень АТ до ТПО у жінок під час перших місяців вагітності є фактором ризику виникнення тиреоїдиту у післяпологовому періоді.

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

### Склад набору

1. Планшет з іммобілізованими антигенами: 1-6 стрипи – ТГ, 7-12 – МА; 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір контролів, 1.2 мл (2 фл.)
4. Фосфатно-сольовий буфер (ФСБ) концентрат 10x, 30 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 100 мкл (1 фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

### Аналітичні характеристики

Очікуванні межі оптичної щільності (ОЩ) негативного контролю 0.1-0.3 оптичних одиниць (ОО).

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 планшета, що б не утворювався конденсат.
2. Приготуйте необхідну кількість розчину ФСБ. Для цього концентрат розбавте 10-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!** Підготовка досліджуваних зразків: 5 мкл сироватки розводять в 500 мкл ФСБ (в 101 раз). Не розбавляйте контрольні зразки!
4. Підготовка робочого розчину кон'югату: 40 мкл кон'югату розводять у 10 мл ФСБ. При постановці реакції тільки на частині планшета кількість розчину кон'югату зменшується пропорційно. Робочий розчин кон'югату готують безпосередньо перед використанням!

### Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів – 8 лунок для контролів та зразків в 2 повторах.
2. Внесіть у лунки 100 мкл контролів та досліджуваних зразків.
3. Інкубуйте 40 хвилин при температурі 20-25°C, періодично струшуючи або на шейкері.
4. Відмийте стрипи 3 рази розчином ФСБ.
5. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
6. Інкубуйте 40 хвилин при температурі 20-25°C, періодично струшуючи або на шейкері.
7. Відмийте стрипи 5 разів розчином ФСБ.
8. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
9. Інкубуйте 15-20 хвилин в залежності від ступеню розвитку окрасу.
10. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
11. Не більше як через 5 хв. визначте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на фотометрі при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
12. Визначте концентрацію АТ до ТГ, МА в досліджуваних зразках по формулі.

### Примітки

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 розчину ФСБ 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.

### Оцінка результатів дослідження

Для визначення наявності антитіл використовують індекс реакції (ІР):

$$IP = \frac{E_{doc}}{E_{neg}}$$

де:  $E_{doc}$  - оптична щільність досліджуваної сироватки,

$E_{neg}$  - оптична щільність негативного контролю.

### 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.

$IP > 1.9$  свідчить про наявність антитіл. Враховуючи можливу похибку аналізу досліджувану сироватку вважають позитивною при  $IP > 2.0$ .

$IP \leq 2.0$  проба вважається негативною.

### 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.

### Гарантії 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.

СР	7041/2007
	11.10.2012

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

### Паспорт

Тест-система для визначення антитіл до  
антигенів щитовидної залози в сироватці крові

### АТ до ТГ, МА– ІФА

### IN VITRO

Серія **595-4**

Дата виготовлення **12.07.2012**

Термін придатності **12.01.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
<b>1. Показники правильності визначення</b>				
1.1	Очікувані межі ОЩ негативного контролю, ОО	0.1-0.3		відповідає
1.2	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
<b>2. Зовнішній вигляд, комплектація</b>				
2.1	Планшет з іммобілізованими антигенами	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Набір контролів	жовтий	2 фл. x 1.2 мл	відповідає
2.4	Фосфатно-сольовий буфер (ФСБ), концентрат 10x	прозорий	1 фл. x 30 мл	відповідає
2.5	Кон'югат	світло-жовтий	1 фл. x 100 мкл	відповідає
2.6	Субстрат	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.7	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