کیت سنجش Anti-Thyroid Peroxidase IgG به روش الایزا

حیطه کاربرد:

محصول Anti-TPO ELISA Kit پیشتاز طب، برای سنجش کمی آنتی‌بادی علیه آنزیم تیروئید پراکسیداز در سرم انسان طراحی شده است. این کیت به عنوان یک ابزار کمک تشخیصی در بیماری‌های هاشیموتو و گریوز همراه با سایر تظاهرات بالینی و روش‌های تشخیصی به کار می‌رود. محتوای این کیت تنها برای تشخیص آزمایشگاهی می‌باشد.

مقدمه:

تیروئید پراکسیداز (TPO) آنزیمی است که به‌طور طبیعی در غده تیروئید وجود دارد. این آنزیم از مهم‌ترین آنتی‌ژن‌های غشاء تیروسیت‌ها است و با اکسیداسیون جایگاه‌های ید در تیروزینِ پروتئینِ تیروگلوبولین، در ساخت هورمون‌های T3 و T4 نقش مهمی دارد. آنتی‌بادی‌های علیه تیروئید پراکسیداز (Anti TPO)، اتوآنتی‌بادی هستند. این آنتی‌بادی‌ها کمپلمان را فعال می‌کنند و تصور می‌شود که در اختلال عملکرد تیروئید و پاتوژنز کم کاری تیروئید نقش مهمی دارند. این تست یک آزمایش حساس برای تشخیص بیماری‌های تیروئیدی اتوایمیون مانند تیروئیدیت هاشیموتو، میگزدم ایدیوپاتیک و بیماری گریوز است.

اساس آزمایش:

اساس این کیت به صورت Indirect می‌باشد. در این کیت چاهک‌های پلیت توسط آنتی‌ژن Thyroid Peroxidase پوشانده (Coating) شده‌اند. در هنگام آزمایش، نمونه‌های رقیق شده به داخل چاهک‌ها ریخته می‌شوند. در صورت وجود آنتی‌بادی از کلاس IgG علیه مولکول Thyroid Peroxidase، این آنتی‌بادی‌ها به آنتی‌ژن کف چاهک متصل می‌گردند. پس از شستشو، با افزودن آنتی‌بادی علیه مولکول‌های IgG انسانی که به آنزیم HRP متصل شده، در صورت وجود آنتی‌بادی‌های متصل شده به آنتی‌ژن‌های کف پلیت، آنتی‌بادی اختصاصی نشان‌دار شده علیه IgG نیز به آن‌ها متصل می‌گردد. پس از شستشو، محلول رنگ‌زا داخل چاهک‌ها ریخته می‌شود که شدت رنگ آبی، متناسب با کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهک‌ها است. افزودن محلول متوقف کننده، رنگ آبی را به زرد تبدیل می‌نماید که بهترین جذب نوری را در طول موج 450 nm دارد.

محتویات کیت:

۱) پلیت ۹۶ خانه حاوی چاهک‌های پوشش داده شده با TPO.
۲) محلول رقیق‌کننده نمونه (Sample Diluent): ویال حاوی محلول به منظور رقیق کردن نمونه‌ها.
۳) محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate): ویال حاوی محلول آنتی‌هیومن آنتی‌بادی از کلاس IgG نشان‌دار شده با آنزیم پراکسیداز (آماده برای مصرف).
۴) سری استاندارد (Standard Set): ۶ ویال استاندارد شامل غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/ml در بافر حاوی پروتئین به عنوان پایدار کننده و تیومرسال به عنوان نگهدارنده.
۵) سرم کنترل‌ها (Control Sera): دو ویال حاوی سرم کنترل با غلظت‌های مشخص درج شده بر روی برچسب ویال.
۶) محلول رنگ‌زای یک مرحله‌ای (Chromogen-Substrate): ویال حاوی تترامتیل بنزیدین و آب اکسیژنه (آماده برای مصرف).
۷) محلول شستشو (Wash Solution): ویال حاوی محلول شستشوی غلیظ (10X) دارای بافر فسفات و 0.5% Tween. به منظور تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، مقدار لازم از محلول شستشوی غلیظ را به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق کنید.
۸) محلول متوقف کننده (Stop Solution): ویال حاوی اسید کلریدریک ۱ نرمال.
۹) برچسب مخصوص پلیت.
۱۰) دفترچه راهنمای محصول.

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی‌باشند:

۱) دستگاه الایزا ریدر (ELISA Reader) دارای فیلتر 450 nm (و در صورت امکان 630 nm به عنوان فیلتر رفرانس).
۲) سمپلرهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتری دقیق.
۳) آب مقطر.

نکات قابل ذکر برای مصرف‌کنندگان:

۱) محتویات این کیت فقط برای مصرف در همین کیت می‌باشد.
۲) این کیت صرفاً به منظور اندازه‌گیری کمی آنتی‌بادی اختصاصی از کلاس IgG علیه Thyroid Peroxidase در نمونه سرم انسانی می‌باشد.
۳) از مخلوط کردن محتویات کیت‌ها با شماره ساخت‌های مختلف جداً خوداری نمایید.
۴) کلیه مواد موجود در کیت که منشاء سرمی دارند از نظر وجود HBs Ag و آنتی‌بادی‌های ضد HCV و HIV کنترل گردیده‌اند و فاقد این عوامل می‌باشند. برای احتیاط بهتر است کاربرانی که با کیت کار می‌کنند از تماس مستقیم با مواد بپرهیزند.
۵) نمونه‌ها، استانداردها، کنترل‌ها وچاهک‌های استفاده شده، باید به عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند. تمامی محلول‌های واکنش‌گر و معرف‌ها باید مطابق با مقررات ملی دفع پسماندهای عفونی امحا شوند.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش سوم – مهر ۱۴۰۴

شرایط نگهداری:

۱) کیت را در یخچال بین دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمایید.
۲) چاهک‌ها را در کیسه مخصوص پلیت همراه با نم‌گیر نگهداری نمایید. پایداری پلیت پس از باز کردن کیسه آن ۴ ماه می‌باشد.
۳) پایداری محتویات کیت تا پایان مدت انقضای نوشته شده بر روی هر یک از آن‌ها می‌باشد.
۴) ممکن است در محلول شستشوی غلیظ کریستال تشکیل شود که این امر مشکلی را ایجاد نمی‌نماید. قبل از تهیه محلول شستشوی کار، برای حل شدن کریستال‌ها، ویال را در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دهید. محلول شستشو را به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق نمایید، این محلول (آماده مصرف) به مدت یک هفته در شرایط ۸-۲ درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری و مصرف می‌باشد.

جمع آوری و آماده‌سازی نمونه:

نمونه های رقیق شده در محلول رقیق کننده می‌تواند در همان روز کاری و در دمای محیط مورد استفاده قرار بگیرد. نمونه (سرم رقیق نشده) می‌تواند برای مدت دو روز در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود، اما برای نگهداری بیشتر از دو روز (حداکثر تا ۳۰ روز) باید در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردد. در ضمن باید از ذوب و انجماد نمودن نمونه پرهیز شود. از نمونه‌های مشکوک به آلودگی میکروبی برای انجام آزمایش استفاده نشود.

آماده‌سازی اولیه نمونه‌ها:

نمونه‌ها را با کمک محلول رقیق‌کننده نمونه به نسبت ۱:۱۰۱ رقیق کنید (۱۰ میکرولیتر نمونه با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول رقیق کننده نمونه).

توجه: استانداردهای کیت آماده مصرف بوده و نیازی به رقیق سازی ندارند.

توضیحات عمومی:

۱) قبل از شروع مراحل آزمایش تمام مواد و نمونه‌ها را به دمای اتاق برسانید.
۲) به محض شروع آزمایش کلیه مراحل باید بدون توقف انجام پذیرند.
۳) از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه استفاده شود.
۴) پس از افزودن محلول متوقف‌کننده، جذب نوری چاهک‌ها حداکثر تا نیم ساعت قابل اندازه‌گیری می‌باشد.
۵) برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهک‌ها به صورت کامل صورت گرفته و آخرین قطرات پس از شستشو از چاهک‌ها تخلیه شوند.
۶) از مهمترین فاکتورها در حصول نتیجه مطلوب، زمان انکوباسیون مناسب می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد قبل از شروع آزمایش تمام مواد و محلول‌های مورد نیاز را آماده نموده و درب آن‌ها را باز کنید. این عمل با کاهش فاصله زمانی بین مراحل سمپلینگ باعث نتایج دقیق‌تر می‌شود.
۷) به دلیل مشابه در بند ۶ بهتر است که حجم انجام تست محدود باشد و زمان ریختن نمونه‌ها بیش از ۵ دقیقه به طول نیانجامد.
۸) شستشوی صحیح با مقدار مناسب بافر شستشو جهت حصول نتایج قابل اعتماد بسیار ضروری است.

مراحل انجام آزمایش:

۱) تعداد چاهک‌های مورد نظر را انتخاب نموده و سایر چاهک‌ها را به همراه نم‌گیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و درب آن را ببندید.
۲) ابتدا مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر استاندارد و نمونه رقیق‌شده را به داخل هر چاهک بریزید (پیشنهاد می‌گردد که از استانداردها و نمونه ها به صورت داپلیکیت استفاده شود بدین معنی که هر استاندارد و نمونه را در دو چاهک بریزید و در انتها از میانگین جذب نوری آن‌ها برای محاسبه نتایج استفاده کنید).
۳) پس از پوشاندن چاهک‌ها توسط برچسب مخصوص پلیت، چاهک‌ها را برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط (۲۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد) قرار دهید .
۴) محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را ۵ بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید. برای شستشو، چنانچه دستگاه واشر اتوماتیک در دسترس نباشد، می‌توان از سمپلر ۸ کاناله و یا سرنگ استفاده نمود. ولی باید مراقب بود که محلول شستشو از یک چاهک به چاهک دیگر وارد نشود؛ زیرا می‌تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد. در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک‌ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نمایید و در انتهای عملیات شستشو، چاهک‌ها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه یا کاغذ نم‌گیر بکوبید تا قطرات اضافی خارج شوند.
۵) ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیم کونژوگه آماده مصرف را به داخل چاهک‌ها بریزید. پس از پوشاندن چاهک‌ها توسط برچسب مخصوص پلیت، چاهک‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط (۲۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد) قرار دهید.
۶) محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را ۵ بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید (همانند بند ۴).
۷) ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا (Chromogen-Substrate) را به هر چاهک اضافه نمایید. چاهک‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی قرار دهید.
۸) با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (Stop Solution) به هر چاهک، ادامه واکنش‌های آنزیمی را متوقف نمایید. برای سنجش جذب نوری هر چاهک از دستگاه الایزا ریدر با فیلتر 450 nm استفاده نمایید (توصیه می‌شود از فیلتر 630 nm به عنوان فیلتر رفرانس استفاده گردد).

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش سوم – مهر ۱۴۰۴

محاسبه نتایج:

از هر دستگاه الایزا ریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج 450 nm می‌توان استفاده نمود.

۱) جذب نوری استانداردها و نمونه‌ها را به کمک دستگاه الایزا ریدر در طول موج 450 nm (و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس 630 nm) بخوانید.

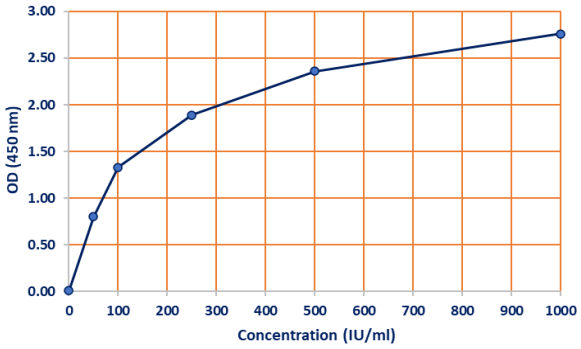
۲) با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها و غلظت معلوم آن‌ها نموداری (Point to Point) رسم کنید؛ به این صورت که جذب نوری استانداردها را روی محور عمودی (Y) و غلظت آن‌ها را روی محور افقی (X) برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد بدست آورید. سپس نقاط بدست آمده را به یکدیگر وصل نمایید تا منحنی بدست آید.

۳) میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور عمودی جای آن را پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل نمایید، به طوری که این خط بر محور عمودی کاملاً عمود باشد؛ و بعد از محل تلاقی خط و منحنی، خطی عمود بر محور افقی وارد کنید. نقطه تلاقی این خط با محور افقی مقدار غلظت را نشان خواهد داد. (برای این کار می‌توانید از **محاسبه‌گر خودکار پیشتاز طب** استفاده کنید.)

۴) اگر نمونه‌های مورد آزمایش نتایجی بالاتر از آخرین استاندارد را نشان دادند، نمونه می‌بایست با محلول رقیق‌کننده رقیق گردد و جواب بدست آمده پس از ضرب در فاکتور رقت محاسبه گردد.

توجه: جذب‌های نوری و منحنی مربوطه فقط به عنوان نمونه می‌باشد و هر آزمایشگاه در هر دفعه انجام آزمایش باید منحنی جدیدی رسم نماید.

جذب نوری	استانداردها (IU/ml)
۰/۰۱	۰
۰/۸	۵۰
۱/۳۳	۱۰۰
۱/۸۹	۲۵۰
۲/۳۶	۵۰۰
۲/۷۶	۱۰۰۰



ارزشیابی آزمایش:

این آزمایش با داشتن شرایط زیر ارزشمند و قابل گزارش تلقی می‌گردد:

- جذب نوری کمتر از ۰/۱ برای استاندارد صفر؛ در صورت بیشتر بودن این جذب نوری، احتمالاً شستشو به طور صحیح صورت نگرفته است. آزمایش را دوباره انجام داده و در مراحل شستشو دقت کنید.
- جذب نوری بیشتر از ۱/۵ برای استاندارد آخر.

مقادیر مورد انتظار:

مقادیر نرمال در سرم افراد سالم که توسط تست‌های مکرر به روش الایزا بدست آمده به قرار زیر می‌باشد، ولی پیشنهاد می‌گردد که هر آزمایشگاه مقادیر نرمال خود را بدست آورد:

گروه	میانگین غلظت (IU/ml)	انحراف استاندارد	محدوده مرجع (۹۵٪ حدود اطمینان)
سالم	۱۲	۹/۰۹	تا ۳۹/۳

محدودیت روش اندازه‌گیری:

با وجود استفاده از مواد بلاک‌کننده آنتی‌بادی‌های هتروفیل در محلول‌های کیت، به علت وجود آنتی‌بادی‌های هتروفیل با منشاءهای متفاوت در سرم افراد، امکان وجود نتایج کاذب وجود دارد. تفسیر تست‌های عملکرد تیروییدی با نتایج یک تست امکان پذیر نبوده و نتایج این آزمایش باید با نتایج سایر تست‌های تیروییدی به طور همزمان تفسیر شود. در هنگام تفسیر نتایج آزمایش‌های انجام شده با این کیت باید به تداخلات مختلف فیزیولوژیکی مثل مصرف داروهای خاص و سابقه بیماری توجه شود.

شاخص‌های اجرایی:

۱) حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری:

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و محاسبات انجام شده Limit of Blank (LOB): 0.3 IU/ml و Limit of Detection (LOD): 1.5 IU/ml می‌باشد. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP17-A2 انجام شده است.

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش سوم – مهر ۱۴۰۴

۲) دقت آزمایش:

آزمایش‌های Intra Assay (هم‌خوانی غلظت مشخص از یک نمونه در یک سری آزمایش) و Inter Assay (هم‌خوانی غلظت مشخص از یک نمونه در سری آزمایش‌های مختلف) با استفاده از ۴ سرم با غلظت‌های مختلف Anti-Thyroid Peroxidase IgG انجام گردید که در جداول ۱ و ۲ آمده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP05-A3 انجام شده است.

جدول ۱- نتایج Intra Assay.

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (IU/ml)	SD	CV%
۱	۲۰	۲/۲۳	۰/۱۲	۵/۳۸
۲	۲۰	۶۵/۹	۲/۰۵	۳/۱۱
۳	۲۰	۲۷۱	۱۲/۴۸	۴/۶۱
۴	۲۰	۶۷۵	۴۷/۹	۷/۱

جدول ۲ - نتایج Inter Assay.

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (IU/mll)	SD	CV%
۱	۲۰	۲/۸۱	۰/۲۳	۸/۱۹
۲	۲۰	۶۹/۶۵	۵/۰۶	۷/۲۶
۳	۲۰	۲۹۸	۲۳/۶	۷/۹۲
۴	۲۰	۷۲۶/۹	۳۸/۴	۵/۲۸

* هر سری آزمایش به‌صورت داپلیکیت انجام شده است.

۳) ریکاوری آزمایش:

مقادیر معلومی از Anti-Thyroid Peroxidase IgG به ۴ نمونه سرم با غلظت‌های مشخص Anti-Thyroid Peroxidase IgG افزوده شد و ریکاوری آن‌ها محاسبه گردید. نتایج مربوطه در جدول ۳ آمده است (جهت تست ریکاوری از استانداردهای کیت استفاده نشود). این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP34 انجام شده است.

جدول ۳ - نتایج ریکاوری آزمایش.

نمونه	مقدار Anti-Thyroid Peroxidase موجود در سرم (IU/ml)	مقدار افزوده شده Anti-Thyroid Peroxidase (IU/ml)	مقدار مورد انتظار (IU/ml)	مقدار بدست آمده (IU/ml)	ریکاوری(٪)
۱	۱۵	۲۵	۲۰	۱۹/۳	۹۶/۵
۱	۱۵	۱۴۵	۸۰	۸۶	۱۰۷/۵
۱	۱۵	۳۲۶	۱۷۰/۵	۱۶۳	۹۵/۶
۲	۶۸	۲۵	۴۶/۵	۴۹	۱۰۵/۳
۲	۶۸	۱۴۵	۱۰۶/۵	۱۱۱	۱۰۴/۲
۲	۶۸	۳۲۶	۱۹۷	۱۸۵	۹۳/۹
۳	۳۴۷	۲۵	۱۸۶	۱۷۹	۹۶/۲
۳	۳۴۷	۱۴۵	۲۴۶	۲۵۵	۱۰۳/۶
۳	۳۴۷	۳۲۶	۳۳۶/۵	۳۴۲	۱۰۱/۶
۴	۸۲۵	۲۵	۴۲۵	۴۱۲	۹۶/۹
۴	۸۲۵	۱۴۵	۴۸۵	۴۵۸	۹۴/۴
۴	۸۲۵	۳۲۶	۵۷۵/۵	۵۹۳	۱۰۳

٤) خطی بودن آزمایش:

رقت‌های متوالی از ۳ نمونه سرم با غلظت مشخص از Anti-Thyroid peroxidase IgG شامل ۱:۲، ۱:۴، ۱:۸، ۱:۱۶ و ۱:۳۲ تهیه گردید. نتایج خطی بودن (جدول ۴) بر اساس ضریب رقت محاسبه شده عددی بین ۱۰±۱۰۰ درصد را نشان می‌دهد. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP06-A انجام شده است.

جدول ٤ - نتایج بررسی خطی بودن آزمایش.

نمونه	مقدار آنتی‌بادی موجود در سرم رقیق نشده (IU/ml)	ریکاوری (٪)				
		رقت ۱:۲	رقت ۱:٤	رقت ۱:۸	رقت ۱:۱٦	رقت ۱:۳۲
۱	۷۵۶	۹۳	۱۰۴	۱۰۱	۱۰۰	۹۸
۲	۳۶۸	۱۰۱	۹۷	۹۸/۳	۱۰۱	۹۹
۳	۱۶۹	۱۰۵	۹۸	۱۰۴	۱۰۳	۱۰۰

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش سوم – مهر ۱۴۰۴

۵) اختصاصیت آزمایش:

اختصاصیت این آزمایش به کمک سرمهایی با غلظت‌های مشخص از مواد اضافه شده مختلف به آن‌ها، به منظور بررسی واکنش‌های متقاطع با Anti-Thyroid Peroxidase IgG سنجیده شد که نتایج آن در جدول ۵ آمده است. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP14-A3 انجام شده است.

جدول ۵ – نتایج تست اختصاصیت (واکنش متقاطع).

آنالیت	غلظت	واکنش متقاطع
ANA	(15 S/C)	< 1.5 IU/ml
DNA	(800 mIU/ml)	< 1.5 IU/ml
ANTI Tg	(1000 IU/ml)	< 1.5 IU/ml
RF	(>300 IU/ml)	< 1.5 IU/ml

٦) صحت آزمایش:

به منظور بررسی صحت آزمایش: همبستگی بر اساس پروتوکل CLSI EP09-A3 به‌طور همزمان بر روی ۱۲۰ نمونه سرم در سطوح مختلف با کیت الایزای تجاری معتبر و کیت الایزای پیشتازطب انجام گردید که نتایج این بررسی‌ها همبستگی حدود ۹۴ درصد را نشان می‌دهد.

$$Y= 1.1282x - 7.3028$$
$$R^2 = 0.8841$$

۷) تست تداخل:

به منظور بررسی تاثیر عوامل مداخله‌گر بر روی نتایج سرمها، پس از اینکه عوامل مداخله‌گر بالقوه (هموگلوبین، تری گلیسرید و بیلی روبین) با غلظت‌های مشخص از آن‌ها به نمونه سرم اضافه گردید، غلظت Anti-Thyroid peroxidase IgG با حالت قبل از افزودن عوامل مداخله‌گر مقایسه می‌گردد. این مطالعه با استفاده از راهنمای CLSI EP07-A2 انجام شد و نتایج آن در جدول ۶ آمده است.

.

جدول ٦ – نتایج تست تداخل.

آنالیت مداخله‌گر	غلظت آنالیت مداخله‌گر	ارزش نمونه قبل از افزودن آنالیت مداخله‌گر (IU/ml)	ارزش نمونه بعد از افزودن آنالیت مداخله‌گر (IU/ml)	تفاوت نتایج (٪)
هموگلوبین	1 mg/ml	۱/۴۷	۱/۴۳	−۲/۷
		۴۲/۱۷	۴۲/۲۵	۰/۱۹
		۱۳۳/۵	۱۳۵/۴	۱/۴
تری‌گلیسرید	3000 mg/dl	۱/۴۷	۱/۳۵	−۸/۱۶
		۴۲/۱۷	۴۵/۲	۷/۱۸
		۱۳۳/۵	۱۳۱	−۱/۸۷
بیلی‌روبین	20 mg/dl	۱/۴۷	۱/۴۹	۱/۳۶
		۴۲/۱۷	۴۴/۳	۵/۰۵
		۱۳۳/۵	۱۳۸	۳/۳۷

منابع:

- Volpe R,"Auto immune disease of the endocrine system",Boca Raton FL, CRC Press(1990). (https://cir.nii.ac.jp/crid/1571417125220550272)
- MakT, Clin Chem, 40, 2128 (1994). (https://academic.oup.com/clinchem/pages/general_instructions)
- Volpe R. Autoimmune endocrinopathies: Aspects of pathogenesis and the role of immune assays in investigation and management. Clin. Chem. 1994; 40:2132–2145. Czarnocka B, Ruff J,Ferrand M, Carayon P,Lissitky S, "Purification of the human thyroid and its identification as the microsomal antigen involved in the human thyroid disease". FEBS Letts, 190, 147-52 (1985). (https://doi.org/10.1016/0014-5793(85)80446-4)
- Beever K,et al, Clin Chem, 35, 1949-54 (1989). (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2776323/)
- Chiavato L, Pinchera A, The microsomal-peroxidase antigen: modulation of its expression in thyroid cells", Auto immunity, 10,319-31 (1991) (https://doi.org/10.3109/08916939109001906)
- Ekholm R, Biosysnthesis of thyroid hormones". Vitam Horm, 39,175-229 (1982). (https://doi.org/10.1016/s0074-7696(08)61602-2)
- Portman L, hamada N, Heinrich G, Degroot LJ, "Anti-Thyroid Peroxidase antibody in patients with autoimmune thyroid disease: Possible identity with anti-microsomal antibody". Jof Clin Endocrinology & Metabolism. 61, 1001-3 (1985). (https://doi.org/10.1210/jcem-61-5-1001)
- Degroot LJ, Heterogeneity human antibodies to TPO Thyroperoxidase". Thyroid Autoimmunity, 207,177-182 (1990). (https://scholar.google.com/scholar?cluster=15057778999366301248&hl=en&as_sdt=2005&sciodt=0,5)
- Nunez J. Pommier J,"Formation of thyroid hormones", Vitam Horm, 39,175-229(1982). (https://doi.org/10.1016/s0083-6729(08)61137-1)

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش سوم – مهر ۱۴۰۴

جدول علائم:

	Use by	تاریخ انقضاء
LOT	Batch code	شماره سری ساخت
SN	Serial number	شماره سریال
	Date of manufacture	تاریخ تولید
REF	Catalogue number	شماره کاتالوگ
	Caution: consult accompanying documents	توجه به مدارک همراه
	Manufacturer	تولیدکننده
	Contains sufficient for <n> tests	محتویات برای n تست کافیست
IVD	In vitro diagnostic medical device	فرآورده تشخیصی
	Temperature limitation	محدوده دمای نگهداری
	Consult instructions for use	کتابچه راهنما
	Biological risks	خطرات زیستی
CONTROL	Control	کنترل
CONTROL -	Negative control	کنترل منفی
CONTROL +	Positive control	کنترل مثبت

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش سوم – مهر ۱۴۰۴

روش انجام آزمایش سنجش کمی آنتی‌بادی IgG علیه Thyroid Peroxidase به صورت شماتیک

نمونه‌ها با کمک محلول رقیق‌کننده نمونه به نسبت ۱ به ۱۰۱ رقیق شود.			
چاهک‌های کوت شده با آنتی‌ژن Thyroid Peroxidase			
محلول‌ها	استانداردها	سرم کنترل	نمونه
استانداردها	۱۰۰ میکرولیتر	–	–
سرم کنترل	–	۱۰۰ میکرولیتر	–
نمونه رقیق‌شده	–	–	۱۰۰ میکرولیتر
دهانه چاهک‌ها با برچسب مخصوص پلیت پوشانده شده و **۳۰ دقیقه** در **دمای اتاق** انکوبه شود. برچسب پلیت برداشته و محتویات چاهک‌ها خالی شود. طبق دستور شستشو ۵ بار چاهک‌ها شسته شود.			
آنزیم کونژوگه	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
دهانه چاهک‌ها با برچسب مخصوص پلیت پوشانده شده و **۳۰ دقیقه** در **دمای اتاق** انکوبه شود. برچسب پلیت برداشته و محتویات چاهک‌ها خالی شود. طبق دستور شستشو **۵ بار** چاهک‌ها شسته شود.			
محلول رنگ‌زا	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
۱۵ دقیقه در **دمای اتاق** و در تاریکی انکوبه شود.			
محلول متوقف کننده	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
جذب نوری چاهک‌ها در طول موج **450 nm** (و درصورت امکان 630 nm به عنوان فیلتر رفرانس) اندازه‌گیری شود.			

جدول محتویات کیت

محتویات کیت	فرمت ۹۶ تستی
پلیت Plate	1×96-wells
محلول رقیق‌کننده نمونه Sample Diluent	2×50 ml
محلول آنزیم کونژوگه Enzyme Conjugate	1×12 ml
سری استانداردها Standard Set	St.:6×1 ml
سرم کنترل بالا High Control Serum	1×1 ml
سرم کنترل پایین Low Control Serum	1×1 ml
محول شستشو Wash Solution	1×50 ml
محلول متوقف‌کننده Stop Solution	1×12 ml
محلول رنگ‌زای یک مرحله‌ای Chromogen - Substrate	1×12 ml
برچسب مخصوص پلیت Cardboard Sealer	1
دستورالعمل استفاده Instruction for Use	1

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن: ۴۲۱۹۷۰۰۰، پیامک: ۳۰۰۰۷۱۴۰۲
info@pishtazteb.com, www.pishtazteb.com
ویرایش سوم – مهر ۱۴۰۴