کیت سنجش Anti-Thyroglobulin IgG به روش الایزا

حیطه کاربرد:

کیت الایزای Anti-Thyroglobulin پیشتاز طب، برای سنجش کمی آنتی‌بادی علیه مولکول تیروگلوبولین در سرم انسان طراحی شده است. این کیت به عنوان یک ابزار کمک تشخیصی در بیماری‌های هاشیماتو و گریوز همراه با سایر تظاهرات بالینی و روش‌های تشخیصی به کار می‌رود. محتوی این کیت تنها برای تشخیص آزمایشگاهی می‌باشد.

مقدمه:

تیروگلوبولین، گلیکوپروتئینی تیروئیدی است که در سنتز هورمون‌های T3 و T4 نقش دارد. تیروگلوبولین توسط سلول‌های طبیعی تیروئید ساخته می‌شود و پروتئین موجود در سلول‌های تیروئید است. تست آنتی بادی، آنتی تیروگلوبولین (ATG) در ارزیابی مشکلات تیروئید استفاده می‌شود. در تیروئیدیت هاشیموتو بیش از ۸۵ ٪ موارد، بیماری گریوز بیش از ۳۰٪ موارد، کارسینومای تیروئید بیش از ۴۵٪ موارد، میگزدم ایدوپاتیک بیش از ۹۵٪ موارد، و در لوپوس حدود ۲۰٪ موارد مثبت می‌گردد. در سندرم داون و ترنر مثبت ضعیف مشاهده شده است.

اساس آزمایش:

اساس این کیت به صورت Indirect ELISA می‌باشد. در این کیت چاهک‌های پلیت توسط آنتی‌ژن Thyroglobulin پوشانده (Coating) شده‌اند. در هنگام آزمایش، نمونه‌های رقیق شده به داخل چاهک‌ها ریخته می‌شوند. در صورت وجود آنتی‌بادی از کلاس IgG علیه مولکول Thyroglobulin، 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 آنتی‌ژن Thyroglobulin.
۲) محلول رقیق کننده نمونه (Sample Diluent): ویال حاوی محلول به منظور رقیق کردن نمونه‌ها.
۳) محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate): ویال حاوی محلول آنتی هیومن آنتی بادی از کلاس IgG نشان‌دار شده با آنزیم پراکسیداز (آماده مصرف).
۴) سری استاندارد (Standard Set): شامل ۶ ویال استاندارد با غلظت‌های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ IU/ml کالیبره شده در مقابل استاندارد WHO (65.093)، 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 بر چسب ویال.
۶) محلول رنگ‌زای یک مرحله‌ای (Chromogen-Substrate): ویال حاوی تترا متیل بنزیدین و آب اکسیژنه (آماده برای مصرف).
۷) محلول شستشو (Wash Solution): ویال حاوی محلول شستشوی غلیظ (10X) دارای محلول 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): یک 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) سمپلر های دقیق.
۳) آب مقطر.

نکات قابل ذکر برای مصرف‌کنندگان:

۱) محتویات این کیت فقط برای مصرف در همین کیت می‌باشد.
۲) از مخلوط کردن محتویات کیت‌ها با شماره ساخت‌های مختلف جداً خوداری نمایید.
۳) این کیت صرفاً به منظور اندازه‌گیری کمی آنتی‌بادی اختصاصی از کلاس IgG علیه Thyroglobulin در نمونه سرم انسانی می‌باشد.
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) محلول شستشوی آماده مصرف که به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق شده باشد به مدت یک هفته در شرایط ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری و مصرف می‌باشد.

جمع آوری و آماده سازی نمونه:

نمونه‌های رقیق شده در محلول رقیق کننده می‌تواند در همان روز کاری و در دمای محیط مورد استفاده قرار گیرد. نمونه (سرم رقیق نشده) می‌تواند برای مدت دو روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و یا برای مدت طولانی‌تر (حداکثر تا ۳۰ روز) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. 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 رقیق‌کننده نمونه).

توجه: استانداردهای کیت آماده مصرف بوده و نیازی به رقیق‌سازی 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 کنید.
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 محلول‌های مورد نیاز 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 رقیق شده را به داخل هر چاهک بریزید (پیشنهاد می‌گردد که از استانداردها و نمونه‌ها 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 (ELISA Washer) اتوماتیک در دسترس نباشد، می‌توان از سمپلر ۸ کاناله و یا سرنگ استفاده نمود، ولی باید مواظب 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 همه چاهک‌ها اضافه نمایید. سپس 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.

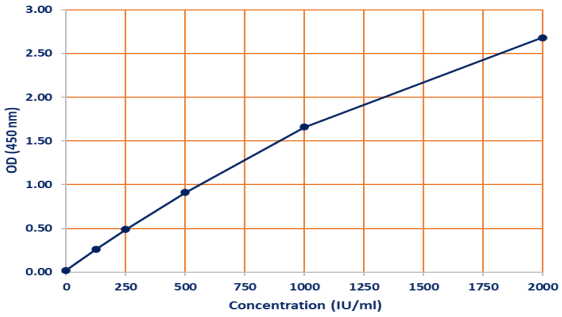
۱) جذب نوری استانداردها و نمونه‌ها را به کمک دستگاه الایزا ریدر در طول موج 450 nm (و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس 630 nm) بخوانید.

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 نمونه های مورد آزمایش نتایجی بالاتر از آخرین استاندارد را نشان دادند، نمونه می بایست با محلول رقیق کننده رقیق گردد، و جواب بدست آمده پس از ضرب در فاکتور رقت محاسبه گردد.

جذب نوری	استانداردها (IU/ml)
۰/۰۲	۰
۰/۲۶	۱۲۵
۰/۴۹	۲۵۰
۰/۹۱	۵۰۰
۱/۶۶	۱۰۰۰
۲/۶۸	۲۰۰۰



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

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 به 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	۳۲/۱	۲۲/۶۱	تا ۱۰۰

محدودیت‌های 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): 5 IU/ml و Limit of Detection (LOD): 8 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-Thyroglobulin 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	۶۳/۹	۲/۶۶	۴/۱۶
۲	۲۰	۱۷۲	۹/۱	۵/۲۹
۳	۲۰	۳۴۰	۱۲/۶	۳/۷۰
۴	۲۰	۱۲۵۲	۴۷/۵	۳/۷۹

جدول ۲ - نتایج Inter Assay.

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (IU/ml)	SD	CV%
۱	۲۰	۶۶/۵	۳/۹۸	۵/۹۸
۲	۲۰	۱۸۰/۸	۱۲/۶۵	۶/۹۹
۳	۲۰	۳۲۴/۹	۳۰/۳۳	۹/۳۳
۴	۲۰	۱۲۰۷/۷۵	۸۰/۳۵	۶/۶۵

* هر سری آزمایش به صورت داپلیکیت انجام شده است.

۳) ریکاوری آزمایش:

مقادیر معلومی از Anti-Thyroglobulin IgG به ۴ نمونه سرم با غلظت‌های مشخص Anti-Thyroglobulin 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-Thyroglobulin موجود در نمونه (IU/ml)	مقدار افزوده شده Anti-Thyroglobulin (IU/ml)	مقدار مورد انتظار (IU/ml)	مقدار بدست آمده (IU/ml)	ریکاوری (%)
۱	۹۴	۱۶۶	۱۳۰	۱۲۲	۹۴
۱	۹۴	۶۳۷	۳۶۵	۳۷۳	۱۰۲
۱	۹۴	۱۲۵۹	۶۷۶	۶۴۴	۹۵
۲	۱۶۶	۹۴	۱۳۰	۱۲۲	۹۴
۲	۱۶۶	۶۳۷	۴۰۱	۳۶۷	۹۱
۲	۱۶۶	۱۲۵۹	۷۱۲	۷۰۵	۹۹
۳	۶۳۷	۹۴	۳۶۵	۳۶۰	۹۹
۳	۶۳۷	۱۶۶	۴۰۱	۳۶۷	۹۱
۳	۶۳۷	۱۲۵۹	۹۴۸	۸۷۹	۹۳
۴	۱۲۵۹	۹۴	۶۷۶	۶۴۴	۹۵
۴	۱۲۵۹	۱۶۶	۷۱۲	۷۰۵	۹۹
۴	۱۲۵۹	۶۳۷	۹۴۸	۸۷۹	۹۳

٤) خطی بودن آزمایش:

با استفاده از محلول رقیق کننده نمونه، رقت‌های متوالی از ۳ نمونه سرم با غلظت مشخص از Anti-Thyroglobulin 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±۱۰۰درصد 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	۱۷۲۴	۱۰۰/۸	۹۴/۷	۹۳/۸	۹۸/۱	۱۰۷
۲	۸۴۳	۹۸	۹۳/۴	۹۷/۸	۱۰۱	۱۰۳
۳	۳۳۲	۱۰۱	۹۸	۱۰۲	۹۹/۳	۹۳

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-Thyroglobulin 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)	<8 IU/ml
DNA	(800 mIU/ml)	<8 IU/ml
ANTI TPO	(1000 IU/ml)	<8 IU/ml
RF	(>300 IU/ml)	<8 IU/ml

٦) صحت آزمایش:

به منظور بررسی صحت آزمایش: همبستگی بر اساس راهنمای CLSI EP09-A3 به‌طور همزمان بر روی ۱۲۷ نمونه سرم در سطوح مختلف با کیت الایزای تجاری معتبر و کیت الایزای پیشتاز طب انجام گردید که نتایج این بررسی‌ها همبستگی حدود ۹۷ درصد را نشان می‌دهد. این بررسی با استفاده از راهنمای CLSI EP09-A3 انجام شده است.

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-Thyroglobulin 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	۱۲۵	۱۲۱	−۳/۲
		۳۲۵	۳۱۸	−۲/۱
		۱۱۲۴	۱۱۳۸	۱/۲
تری گلیسرید	3000 mg/dl	۱۲۵	۱۲۰	−۴
		۳۲۵	۳۳۰	۱/۵
		۱۱۲۴	۱۱۹۴	۶/۲
بیلی روبین	20 mg/dL	۱۲۵	۱۱۴	−۸/۸
		۳۲۵	۳۳۴	۲/۷
		۱۱۲۴	۱۱۷۲	۴/۳

منابع:

- Volpe R," Autoimmune disease of the endocrine system", Boca Raton, FL, CRC Press(1990). (https://cir.nii.ac.jp/crid/1571417125220550272)
- 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 Lett., 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/)
- MakT, Clin Chem, 40, 2128 (1994). (https://academic.oup.com/clinchem/pages/general_instructions)
- Nunez J. Pommier J," Formation of thyroid hormones", Vitam Horm, 39,175-229(1982). (https://doi.org/10.1016/s0083-6729(08)61137-1)
- Ekholm R, Biosynthesis of thyroid hormones. Vitam Horm, 39,175-229 (1982). (https://doi.org/10.1016/s0074-7696(08)61602-2)
- Czarnocka B, Ruff J, Ferrand M, Carayon P , LISSITZKY 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)
- Degroot LJ, Heterogeneity of 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)

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

- Portman L, Hamada N, Heinrich G, Degroot LJ, “Anti-Thyroid Peroxidase antibody in patients with autoimmune thyroid disease: Possible identity with anti-microsomal antibody”. J Clin Endocrinology & Metabolism. 61, 1001-3 (1985). (https://doi.org/10.1210/jcem-61-5-1001)

جدول علائم:

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

روش انجام آزمایش سنجش کمی آنتی‌بادی IgG علیه Thyroglobulin به‌صورت شماتیک

نمونه‌ها با کمک محلول رقیق‌کننده نمونه به نسبت ۱ به ۱۰۱ رقیق شود.			
چاهک‌های کوت شده با آنتی‌ژن Thyroglobulin			
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
محول رقیق‌کننده Sample Diluent	2×50 ml
محلول آنزیم کونژوگه Enzyme Conjugate	1×12 ml
سری استانداردها Standard Set	St.:6×1.5 ml
سرم کنترل بالا High Control Serum	1×1.5 ml
سرم کنترل پایین Low Control Serum	1×1.5 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