

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پوششگاه در زمینه تشخیص و تست‌های آزمایشگاهی</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

آماده سازی	۹۶ تستی	۴۸ تستی	معرف
آماده مصرف	1×96 wells	1×48 wells	میکروپلیت
آماده مصرف	6 × 1.0ml	6 × 0.7 ml	کالیبراتور (-) 0-25-50-100-250 (IU/ml) کالیبره شده در مقابل استاندارد مرجع WHO 66/387 در بافر سازگار با سرم انسانی، همراه با نگهدارنده
آماده مصرف	1 × 1.0ml	1 × 0.7 ml	نمونه کنترل پایین در بافر سازگار با سرم انسانی، همراه با نگهدارنده
آماده مصرف	1 × 1.0ml	1 × 0.7 ml	نمونه کنترل بالا در بافر سازگار با سرم انسانی، همراه با نگهدارنده
آماده مصرف	2 × 50ml	1 × 50ml	محلول رقیق کننده نمونه (زرد رنگ)
آماده مصرف	1 × 12.0ml	1 × 6.0ml	کونژوگه (قرمز رنگ)
به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر یا آب دیونیزه رقیق کنید	1 × 30.0ml	1 × 30.0ml	محلول شستشو غلیظ (20X)
آماده مصرف	1 × 12.0ml	1 × 6.0 ml	محلول سوبسترا-رنگزا (تترامیل بنزدین و آب اکسیژنه)
آماده مصرف	1 × 6.0ml	1 × 6.0ml	محلول توقف (اسید کلریدریک ۱ مولار)

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پوشش‌های تشخیصی و غربالگری</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

کاربرد:

کیت الایزای Anti-TPO شرکت پیشگامان سنجش یک روش ایمنونواسی برای اندازه‌گیری کمی و نیمه کمی آنتی‌بادی‌های اختصاصی از کلاس IgG علیه تیروئید پراکسیداز (TPO) در سرم انسان است. این کیت ابزار کمک تشخیصی برای بیماری‌های خود ایمن تیروئیدی مانند هاشیموتو، گریوز و گواتر غیر سمی می‌باشد.

مقدمه:

تیروئید پراکسیداز (TPO) یک آنزیم گلیکوپروتئینی غشایی بزرگ بر روی غده تیروئید است. این آنزیم در مراحل متعدد سنتز هورمون تیروئید نقش اصلی را دارد. TPO به همراه تیروگلوبولین (Tg) و گیرنده TSH یکی از سه اتوانتی ژن اصلی تیروئید می‌باشد.

امروزه وجود اتوانتی‌بادی علیه TPO و Tg روشی شناخته شده برای تشخیص تیروئیدیت خودایمن مزمن و تشخیص افتراقی کم کاری تیروئید می‌باشد. اتوانتی‌بادی علیه TPO در ۹۱-۹۹٪ از بیماران مبتلا به هاشیموتو مزمن، و ۷۱-۹۷٪ از بیماران مبتلا به گریوز دیده شده‌است. اتوانتی‌بادی علیه TPO و Tg در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم تیروئید یا پرکاری تیروئید نیز دیده می‌شود، همچنین ممکن است در افراد سالم نیز مقادیر کمی از این اتوانتی‌بادی‌ها وجود داشته باشد. لازم به ذکر است که نتایج منفی نیز نمی‌تواند به طور قطعی احتمال ابتلا به بیماری خود ایمن را از بین ببرد.

کیت Anti-TPO پیشگامان سنجش یک روش ایمنونواسی فاز جامد می‌باشد که از تیروئید پراکسیداز انسانی نوترکیب (TPO)، برای تشخیص کمی و کیفی آنتی‌بادی‌های ضد TPO از کلاس IgG در سرم انسانی استفاده می‌کند. این کیت به تشخیص افتراقی اختلالات خودایمن تیروئیدی از گواتر و کم کاری‌های تیروئیدی غیر اتوایمن کمک می‌کند.

اساس آزمایش

مبنای کیت سنجش Anti TPO شرکت پیشگامان سنجش ایساتیس بر پایه الایزای غیرمستقیم (Indirect) می‌باشد. در این روش در مرحله اول، نمونه‌های سرم رقیق شده، به پلیت‌های کوت شده با TPO افزوده می‌شود. آنتی‌بادی‌های علیه TPO موجود در سرم افراد مبتلا، به آنتی‌ژن‌های کف چاهک متصل می‌شود. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، برای حذف آنتی‌بادی‌های آزاد و اتصالات غیر اختصاصی، چاهک‌ها توسط محلول شستشو، شسته می‌شوند. سپس Anti-human IgG کوئزوگه با HRP که بر علیه آنتی‌بادی IgG ضد TPO انسانی موجود در سرم افراد است به چاهک‌ها اضافه و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط، چاهک‌ها توسط محلول شستشو، شسته می‌شوند. سپس با اضافه کردن محلول سوبسترا- رنگزا و انکوباسیون به مدت ۱۵ دقیقه رنگ آبی ظاهر

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پیشگامان در تشخیص‌های آزمایشگاهی و تشخیص مولکولی</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

می‌گردد. با افزودن محلول متوقف‌گر، واکنش آنزیمی متوقف می‌شود و در نهایت شدت جذب نوری در ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس اندازه‌گیری می‌شود. شدت رنگ تولید شده با غلظت آنتی‌بادی ضد TPO در نمونه سرم رابطه مستقیم دارد.

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نیست:

۱. سمپلهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ میکرولیتری دقیق، سمپلر ۸ کاناله با قابلیت پیپتینگ ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر و یا دیسپنسر اتوماتیک، اگرچه ضروری نیست ولی باعث بهبود قابل توجه تکرارپذیری و صحت نتایج می‌گردد.
۲. آب مقطر با هدایت کمتر از $1 \mu\text{S/cm}$
۳. دستگاه الایزا ریدر دارای فیلتر ۴۵۰ نانومتری و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتری بعنوان فیلتر رفرانس.
۴. کاغذ جاذب رطوبت
۵. دستگاه و اشتر اتوماتیک یا هر تجهیز دیگر نظیر سمپلر ۸ کاناله یا سرنگ که قادر به ریختن ۳۵۰ میکرولیتر محلول شست و شو باشد.
۶. لوله جهت رقیق سازی نمونه‌های سرمی

نگهداری کیت:

۱. کیت پس از تحویل باید در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد (یخچال) نگهداری شود. کلیه معرف‌ها و اجزاء کیت تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی جعبه کیت به شرط نگهداری در دمای یادشده پایدار هستند.
۲. هرگز فراتر از تاریخ انقضاء مندرج بر روی جعبه از کیت استفاده نکنید.
۳. غلظت کالیبراتورها و نیز دامنه قابل قبول نمونه‌های کنترل بر روی ویال شده است و ممکن است بین شناسه‌های مختلف ساخت تفاوت داشته باشد.
۴. از انجماد کیت یا اجزاء کیت خودداری نمایید.
۵. میکروپلیت باید در کیسه در بسته به همراه نمگیر نگهداری شود. در هنگام استفاده پس از رسیدن دمای کیسه میکروپلیت به دمای اتاق، تعداد لازم استریپ را از کیسه آلومینیومی خارج و مابقی همراه نمگیر بلافاصله به کیسه منتقل و درب کیسه با دقت بسته و به یخچال منتقل گردد.
۶. محلول شستشو باید روزانه و تازه تهیه شود و در همان روز تهیه مصرف شود.
۷. تغییر در خصوصیات فیزیکی معرف‌ها نظیر وجود ذرات معلق در آنها اغلب حاکی از آلودگی و خرابی معرف‌ها می‌باشد.

IVD-REF: PSTPO		کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

۸. محلول سوبسترا-رنگ‌زا باید بی‌رنگ باشد. وجود رنگ آبی در این محلول نشان از خرابی و آلودگی آن دارد و باید دور ریخته شود.
۹. کیت‌های باز شده اگر در شرایط توصیه شده در بالا نگهداری شوند، حداکثر به مدت ۸ هفته پایدار خواهند بود.
۱۰. اجزاء کیت‌ها با سری ساخت متفاوت را با یکدیگر مخلوط نسازید و از جابجایی درب معرف‌ها جلوگیری شود.
۱۱. استفاده از سر سمپلر یکبار مصرف برای دقت و صحت و پرهیز از آلودگی برای برداشتن نمونه‌ها استانداردها و کنترل‌ها ضروری است.

جمع آوری و آماده سازی نمونه:

۱. سرم نمونه مناسب برای این آزمایش است.
۲. از نمونه‌های با کدورت بالا، همولیز یا لیپمیک ترجیحاً استفاده نشود.
۳. در صورتی که انجام آزمایش در همان روز جمع‌آوری نمونه امکان پذیر نباشد، نمونه‌ها را می‌توان برای مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری کرد. برای مدت طولانی‌تر نمونه‌ها باید در 20°C - سانتیگراد نگهداری شود.
۴. از ذوب و انجماد مکرر نمونه‌ها اجتناب شود. نمونه‌های منجمد باید قبل از آزمایش به آرامی، اما به طور کامل مخلوط شده تا کاملاً یکنواخت و همگن گردد.

احتیاطات و هشدارها

۱. کیت فقط برای تشخیص آزمایشگاهی کاربرد دارد.
۲. کلیه معرف‌های کیت برای سنجش مستقیم Anti TPO در نمونه سرم استاندارد شده‌اند.
۳. قبل از آغاز سنجش، دستورالعمل پیش رو را بدقت مطالعه نموده و اطمینان حاصل کنید که تمامی نکات آن را بخوبی فرا گرفته‌اید. همواره از ویرایش معتبر و به روز دستورالعمل که همراه کیت بسته‌بندی شده‌است، استفاده کنید.
۴. کلیه جوانب ایمنی در اجرای آزمایش رعایت شود. برای آگاهی از احتیاطات لازم به "راهنمای اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه (روش‌های صحیح میکروب شناسی و تکنیک‌های صحیح آزمایشگاهی)" تالیف دکتر شهلا فارسی از انتشارات کمیته ایمنی و امنیت زیست آزمایشگاهی اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت ویرایش ۱۳۹۳ مراجعه نمایید.

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پوششگاه در زمینه تشخیص و تست‌های آزمایشگاهی</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

۵. از تماس تمام معرف‌ها به ویژه محلول توقف که حاوی اسیدکلریدریک است با پوست جلوگیری شود. در صورت تماس با آب و صابون شستشو داده شود.

۶. در این کیت برای ساخت برخی اجزاء از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر آنتی‌بادی علیه HIV-1 and HCV و آنتی ژن سطحی ویروس هپاتیت B (HBsAg)، منفی گزارش شده‌اند، ولی از آنجایی که هیچ آزمایشی نمی‌تواند به طور کامل ایمنی یک نمونه با منشأ انسانی را تضمین نماید، با آن همانند یک نمونه بالقوه عفونی رفتار نمایید.

۷. با کلیه نمونه‌های بیمار به عنوان نمونه‌های بالقوه عفونی برخورد نمایید.

۸. برخی از معرف‌ها حاوی سدیم آزاید به عنوان نگهدارنده می‌باشند. سدیم آزاید ممکن است با سرب و مس موجود در لوله کشی آب شهری واکنش داده و تولید آزیدهای فلزی قابل انفجار کند. جهت آگاهی از نحوه وارهایی پسماندهای آزمایشگاهی به “دستورالعمل نحوه مدیریت پسماندهای آزمایشگاهی” تالیف دکتر شهلا فارسی از انتشارات کمیته ایمنی و امنیت زیست آزمایشگاهی اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت و پیرایش ۱۳۹۴ مراجعه نمایید.

نکات مهم در انجام تست:

۱. فرایند شستشو از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. شستشوی ناکافی باعث عدم جدا شدن پیوندهای غیر اختصاصی و جذب نوری زمینه (Background) می‌گردد.
۲. کیفیت آب مقطر مصرفی در کیفیت محلول شستشو و جدا کردن پیوندهای غیر اختصاصی اهمیت زیادی دارد.
۳. قبل از شروع کار اطمینان حاصل نمایید که دمای کلیه اجزاء کیت به دمای اتاق رسیده باشد.
۴. دمای مطلوب محیط آزمایشگاه برای آزمایش‌های الایزا ۲۲ تا ۲۷ درجه سانتیگراد می‌باشد.
۵. معرف‌ها و نمونه‌ها را قبل از آزمایش بخوبی مخلوط نمایید.
۶. بهتر است استانداردها، کنترل‌ها و نمونه‌ها را به صورت دوتایی (Duplicate) و ترجیحاً در دو چاهک عمودی آزمایش کنید و میانگین جذب نوری دو چاهک جهت محاسبه نتایج مورد استفاده قرار گیرد.
۷. جهت پیبیت کردن محلول سوبسترا-رنگ‌زا و محلول توقف از میکروپیپت‌های حاوی قطعات فلزی استفاده نکنید.
۸. زمان‌های انکوباسیون و دمای انکوباسیون را با دقت رعایت کنید.
۹. بیش از شش استریپ در هر بار، تست گذاشته نشود.
۱۰. در صورت تمایل به گزارش نتایج به صورت کمی، در هر بار انجام آزمایش منحنی کالیبراسیون را مجدد ترسیم نموده و برای محاسبه نتایج از منحنی ذخیره شده استفاده نکنید.
۱۱. مراحل آزمایش را بدون وقفه انجام دهید. وقفه بین مراحل باعث نتایج کاذب می‌گردد.

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پوششگاه در زمینه تشخیص و سنجش آنتی</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

۱۲. در کلیه مراحل انجام آزمایش و متعاقب هر مرحله پییتینگ، چاهکها از نظر وجود حباب بررسی شوند. در صورت وجود حباب با ضربه آهسته به پلیت از محیط خارج شوند.
۱۳. هر نوع نمونه یا ماده کنترلی که حاوی سدیم آزاید یا تیمرسال باشد، با این کیت سازگار نبوده و آزمایش بر روی آنها ممکن است به حصول پاسخهای کاذب بیانجامد.
۱۴. اکیدا توصیه می‌گردد آماده سازی نمونه‌ها مطابق روش اعلام شده قبل از انجام تست انجام گیرد.
۱۵. از قرار دادن نمونه‌های آماده شده در یخچال خودداری گردد. نمونه‌های رقیق شده به مدت ۶ ساعت در دمای محیط پایدار هستند. در فاصله زمانی شرایط نگهداری نمونه‌ها باید به گونه‌ای باشد تا از آلودگی‌های شیمیایی و میکروبی اجتناب شود.

آماده‌سازی معرف‌ها:

۱. همه معرف‌ها باید قبل از استفاده به دمای اتاق (27°C - 22°C) برسند.
۲. تهیه محلول شستشو: برای تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، یک حجم از بافر شستشو غلیظ (20X) را با ۱۹ حجم آب مقطر رقیق نمائید.
۳. نمونه‌های سرمی را با محلول رقیق کننده نمونه به نسبت ۱ به ۱۰۱ رقیق کنید.
(به عنوان مثال: ۱۰ میکرولیتر نمونه با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول رقیق کننده نمونه، سپس به خوبی همگن شود)

روش انجام آزمایش:

- ۱- تعداد چاهک‌های کوت شده برای استانداردها، کنترل‌ها و نمونه‌های بیمار را انتخاب کنید و مابقی چاهک‌ها را همراه ماده نمگیر درون کیسه مخصوص قرار داده و درب آن را ببندید.
- ۲- ۱۰۰ میکرولیتر از استانداردها، نمونه‌های کنترل پایین و بالا داخل چاهک‌های مربوطه بریزید.
- ۳- ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های آماده شده داخل چاهک‌های نمونه بریزید.
- ۴- درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده، آنرا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (27°C - 22°C) انکوبه کنید.
- ۵- محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را طبق دستورالعمل زیر شستشو دهید:
برای شستشوی چاهک‌ها، ابتدا ۳۵۰ میکرولیتر بافر شستشو را داخل چاهک بریزید، سپس چاهک‌ها را وارونه کرده و همراه با تکان دادن خالی کنید و عمل شستشو را چهار بار دیگر (جمعاً به مدت ۵ بار) تکرار کنید. در انتهای

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پوشش‌های تشخیصی و سرم‌آزمایی</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

شستشو، با ضربه زدن ملایم پلیت بر روی کاغذ یا پارچه جاذب رطوبت تمامی مایع موجود در چاهک‌ها را تخلیه نمائید. بهتر است برای شستشو از دستگاه‌های اتوماتیک و اشرف که قابل برنامه‌ریزی است استفاده نمایید. که در این صورت به دستورالعمل دستگاه شستشو مراجعه نمایید.

۶- ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کونژوگه، به تمام چاهک‌ها اضافه کنید.

۷- درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده، آنرا بمدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (27°C - 22°C) انکوبه کنید.

۸- مطابق با روش مشروحه بند ۶ عمل شستشو را انجام دهید.

۹- ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترا-رنگ‌زا آماده مصرف به تمامی چاهک‌ها اضافه کنید و آن‌ها را بمدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه نمائید.

۱۰- ۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده واکنش به همان ترتیبی که محلول سوبسترای رنگ‌زا را اضافه نمودید، به همه چاهک‌ها اضافه کنید. سپس حداکثر ظرف مدت ۵ دقیقه جذب نوری هر چاهک را در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر قرائت نمائید (از طول موج ۶۳۰ نانومتر بعنوان فیلتر رفرانس استفاده کنید).

محاسبه کمی نتایج:

با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها روی محور عمودی (محور Y) و غلظت آن‌ها روی محور افقی (محور X) بر روی کاغذ میلی‌متری، منحنی استاندارد را از طریق ترسیم خطوطی که از تمامی نقاط تلاقی عبور کرده است، ترسیم کنید.

میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور Y جای آن را پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل کنید. از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور X وارد کنید تا نقطه تلاقی که نشان دهنده غلظت نمونه است، بدست آید.

در صورتیکه از اسپکتروفوتومتر مخصوص میکروپلیت که مجهز به سیستم پردازش داده‌های داخلی است استفاده می‌کنید، جهت محاسبه نتایج و ترسیم منحنی کالیبراسیون به دستورالعمل دستگاه مراجعه نمایید. برای محاسبه نتایج Anti TPO شرکت پیشگامان سنجش ایساتیس از مدل محاسباتی نقطه-به-نقطه (Point-to-point) استفاده کنید.

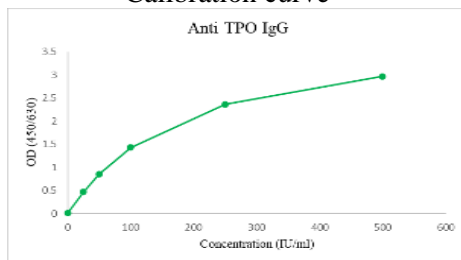
IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پوششگاه در زمینه تشخیص و سرویس آوری</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

داده‌های نمادین منحني کالیبراسیون

مقادیر جذب نوری ارائه شده در جدول ذیل به عنوان داده‌های نمادین آورده شده است. لازم به یادآوری است این داده‌ها فقط جنبه راهنمایی داشته و هر آزمایشگاهی باید برای هر بار آزمایش یک منحني استاندارد جدید براساس نتایج بدست آمده در آزمایشگاه خویش ترسیم نماید.

Standard Conc. (IU/ml)	OD
0	0.01
25	0.47
50	0.85
100	1.43
250	2.36
500	2.97

Calibration curve



معیارهای صحه‌گذاری ران کاری:

در پایان هر ران کاری باید معیارهای زیر بدست آید، در غیر اینصورت فرآیند انجام تست معتبر نبوده و باید پس از رفع مشکل، تست مجدداً تکرار شود:

Reagent	OD
Standard 0 IU/ml (1 st St.)	<0.1
Standard 50 IU/ml (3 rd St.)	>0.1
Standard 500 IU/ml (6 th St.)	>1.2

محاسبه نیمه کمی نتایج

در کیت Anti TPO استاندارد 50 نزدیک‌ترین استاندارد به cut-off است. در آزمون نیمه کمی لازم است علاوه بر استاندارد 50 IU/ml استانداردهای 0 IU/ml و 500 IU/ml را نیز بگذارید. اگر مایل به محاسبه نیمه کمی نتایج هستید، می‌توان از آن به عنوان معیار تفکیک پاسخ‌های مثبت از منفی استفاده نمایید. برای این منظور می‌توانید از شاخص COI (Cut-off Index) استفاده نمایید. برای محاسبه COI کافی است جذب نوری بدست آمده از نمونه‌های بیمار را به جذب نوری استاندارد 50 که نزدیک‌ترین استاندارد به cut-off است تقسیم نمایید:

$$COI = \frac{OD \text{ sample}}{OD \text{ cut off (50 IU/ml Standard)}}$$

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش روشنگار در تشخیص و سواوری</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

مقادیر مورد انتظار:

تفسیر نتایج	نتایج کمی (IU/ml)	نتایج نیمه کمی (COI)
Normal Range	<40	<0.9

نتایج سرولوژی این کیت نباید به عنوان تنها معیار برای مداخلات درمانی مبنا قرار گیرد و باید در کنار سایر معیارها نظیر تابلوی بالینی بیمار تفسیر شود.

کنترل کیفی:

در هر کیت دو نمونه کنترل پایین و بالا وجود دارد که غلظت هر کدام بر روی ویال مربوطه درج شده است. علاوه بر این، آزمایشگاه می‌تواند در هر ران از نمونه‌های مثبت ران‌های پیشین، مشروط بر اطمینان از پایداری آنتی‌بادی در آن نیز استفاده نماید.

اختصاصیت تشخیصی:

اختصاصیت تشخیصی که با درصد افراد با تفسیر منفی (کسر عددی ضرب در ۱۰۰) در عدم حضور آنتی‌بادی اختصاصی مشخص می‌شود، برای این کیت معادل ۹۷٪/۵ (بازه اطمینان ۹۵٪ از ۸۷/۱ تا ۹۹/۶٪) بدست آمد.

حساسیت تشخیصی:

حساسیت تشخیصی که با درصد افراد با تفسیر مثبت (کسر عددی ضرب در ۱۰۰) در حضور آنتی‌بادی اختصاصی مشخص می‌شود، برای این کیت معادل ۹۷٪/۵ (بازه اطمینان ۹۵٪ از ۸۷/۱ تا ۹۹/۶٪) بدست آمد.

IVD-REF: PSTPO	 پیشگامان سنجش پخش کننده تخصصی و عمومی	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

خصوصیات اجرایی کیت ۱- دقت (Precision):

دقت روش با استفاده از کلیه معرف‌های کیت Anti TPO شرکت پیشگامان سنجش و سه انباشته سرمی تهیه شده از نمونه‌های بیمار مطابق با راهنمای EP 05-A3 مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) بدست آمد.

طی ۱۰ روز کاری، سه کاربر و هر یک روزانه سه ران اندازه‌گیری‌های تکراری به صورت دوتایی در هر ران بر روی نمونه‌های یاد شده انجام دادند (۲×۳×۳×۱۰). نتایج به کمک یک نرم‌افزار صفحه گسترده و با روش آماری Fully nested ANOVA تحلیل گردید، خلاصه نتایج در جدول زیر آورده شده است:

Sample Description	Mean (IU/ml)	Repeatability		Within-Laboratory Precision	
		SD	%CV	SD	%CV
Patient Pool A	15.32	1.15	7.50	1.30	8.48
Patient Pool B	68.25	6.41	9.39	6.71	9.83
Patient Pool C	212.45	7.15	3.36	7.89	3.71

۲- اختصاصیت آنالیتیک (Analytical Specificity):

در این کیت هموگلوبین تا ۵۰ mg/ml، بیلی‌روبین تا ۲۰ mg/dL، و تری‌گلیسریدها تا ۱۰۰۰ mg/ml تأثیری بر سنجش ندارند.

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پیشگامان در تشخیص و مراقبت</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

منابع و مراجع:

1. DEGROOT LJ., NIEPOMNISZCZE H. Biosynthesis of thyroid hormone: basic and clinical aspects. *Metabolism*1977;26(6):665-718.
2. GUTEKUNST R. Hashimoto-Thyreoiditis: Diagnostik und Verlaufskontrolle. In: Börner W, Weinheimer B (Eds): *Schilddrüse* 1989. Walter de Gruyter, Berlin, New York 1991;348–355.
3. MAYER A. ET ORGIAZZI J. Auto-immunité thyroïdienne humaine. *La Thyroïde* 2eme edition 2001; 224-233.
4. FANNENSTIEL P., SALLER B. *Schilddrüsenkrankheiten – Diagnose und Therapie*, 2e édition. Berliner Medizinische Verlagsanstalt 1995; 28–30,141,169–172, 200–201.
5. MCINTOSH RS., ASGHAR MS., WEETMAN AP. The antibody response in human autoimmune thyroid disease. *Clin Sci* 1997;6(92):529–541.
6. VOLPÉ R. Rational Use of Thyroid Function Tests. *Crit Rev Clin Lab Sci*1997;34(5):405–438.
7. FELDT-RASMUSSEN U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, hyroglobulin, and thyrotropin receptor. *Clin Chem* 1996;42(1):160–163.
8. UTIGER RD. The pathogenesis of autoimmune thyroid disease. *N Eng J Med* 1991;325:278–279.
9. DAVIES TF, EISS I. Autoimmune thyroid disease and pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1981;1:187-92.
10. AMINON N., YABU Y., MIKI T., et al. Serum ratio of triiodothyronine to thyroxine and thyroxine-binding globulin and calcitonin concentrations in Graves' disease and destruction-induced thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;53(1):113-6.

IVD-REF: PSTPO	 <p>پیشگامان سنجش پیشگام در تشخیص‌های تشخیصی و غربی</p>	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

خطایابی در آزمایش الایزا

نوع مشکل	علت مشکل	راه حل
پایین بودن OD استانداردها و نمونه‌ها	افت و یا آلودگی کونژوگه	تکرار تست با کونژوگه جدید
	پایین بودن دما و یا کوتاه بودن زمان انکوباسیون، به دما نرسیدن محلولهای کیت و نمونه بیماران	دمای آزمایشگاه و تایمر را چک کرده و تست را تکرار کنید قبل از شروع آزمایش کیت و نمونه بیماران به دمای اتاق برسد
	pH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer، شستشوی نامناسب و یا خشک شدن چاهک‌ها	pH آب مقطر را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک‌ها بلافاصله تست را ادامه دهید
	نگهداری نامناسب کیت و عدم رعایت زنجیره سرد	پس از باز کردن کیت تاریخ را ثبت کرده و به تاریخ انقضا توجه کنید پس از هر بار مصرف پلیت را با چسب بپوشانید و کیت را در یخچال نگهداری کنید
صحیح نبودن نمودار استانداردها	طول موج خوانش نامناسب (405 nm بجای 450 nm)	تست را با دستگاه کالیبر شده بخوانید طول موج دستگاه را دوباره چک کنید
	آلودگی استانداردها	از سری استاندارد جدید استفاده کنید
	پیتینگ نامناسب	استفاده از نوک سمپلر یکبار مصرف از سمپلرهای تک کاناله یا چند کاناله کالیبر شده استفاده کنید توجه کنید نوک سمپلر محکم به سمپلر متصل باشد توجه کنید در هنگام پیتینگ حباب وارد نوک سمپلر نشود
بالا بودن رنگ زمینه، بالا بودن OD	pH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer، شستشوی نامناسب یا خشک شدن چاهک‌ها	pH آب مقطر را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک‌ها بلافاصله تست را ادامه دهید
	آلودگی استاندارد صفر	تکرار تست با استانداردهای جدید
	آلودگی محلول رنگزا	استفاده از محلول رنگزا جدید
	آلودگی و یا غلظت پایین Wash Buffer، شستشوی نامناسب	عدم آلودگی آب مقطر با موادی مانند وایتکس را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید تمام سوزن‌های دستگاه و اشرف را چک کنید
	طول موج نامناسب در خوانش	تست را با دستگاه کالیبر شده بخوانید طول موج دستگاه را دوباره چک کنید از فیلتر 630 نانومتر بعنوان فیلتر فرانس استفاده کنید
	آلودگی محلول Stop	تکرار تست با محلول Stop جدید

IVD-REF: PSTPO	 پیشگامان سنجش پیشگامان در دسترس تشخیصی و تست‌های آوری	کیت الایزا Anti-TPO
Ver. No: 00		Anti-TPO IgG ELISA KIT

تکرار تست با مواد همان کیت	استفاده از مواد سایر کیت ها	عدم تولید رنگ در چاهک‌ها
تکرار تست	انجام نشدن مرحله ای از تست	
تکرار تست با محلول رنگزا جدید	آلودگی محلول رنگزا	
تکرار تست با محلول کونژوگه جدید	آلودگی محلول کونژوگه با سدیم آزاید	
استفاده از نوک سمپلر یکبار مصرف از سمپلرهای تک کاناله یا چند کاناله کالیبر شده استفاده کنید توجه کنید نوک سمپلر محکم به سمپلر متصل باشد توجه کنید در هنگام پیپتینگ حباب وارد نشود توجه کنید جداره خارجی نوک سمپلر حاوی محلول نباشد کالیبراسیون و تمیز کردن ادواری سمپلرها	پیپتینگ نامناسب، گرفتگی لوله داخلی سمپلر بواسطه آلودگی	
فاصله زمانی بین اضافه کردن استانداردها و نمونه نباید بیشتر از ۱۰ دقیقه باشد. در این صورت نتایج قابل اعتماد نیست	طولانی شدن زمان انجام تست	
پس از باز کردن کیت تاریخ را ثبت کنید و به تاریخ انقضاء توجه کنید	نگهداری نامناسب کیت و عدم رعایت زنجیره سرد	
پیپتینگ صحیح و شستشوی مناسب، پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک‌ها بلافاصله تست را ادامه دهید	باقی ماندن کونژوگه در لبه چاهک‌ها و عدم شستشوی مناسب و یا خشک شدن چاهک‌ها	
در حین انکوباسیون و بعد از Stop کردن واکنش توجه کنید حباب در چاهک‌ها نباشد	وجود حباب در چاهک‌ها	عدم تکرار پذیری مناسب
کف چاهک‌ها را با دستمال نرم و مرطوب، تمیز کنید	کثیف بودن کف چاهک‌ها	
قبل از استفاده، ویال محلول‌ها را به آرامی تکان دهید	مخلوط نشدن محلول‌های کیت	