کیت سنجش Anti Thyroid proxidase IgG به روش الایزا

حیطه کاربرد :

کیت الایزای Anti Thyroid proxidase پیشتاز طب، برای سنجش کمی آنتی بادی علیه آنزیم تیروئید پراکسیداز در سرم انسان طراحی شده است. این کیت به عنوان یک ابزار کمک تشخیص در بیماریهای هاشیموتو و گریوز همراه با سایر تظاهرات بالینی و روش های تشخیصی به کار می رود. محتوای این کیت تنها برای تشخیص آزمایشگاهی می باشد .

مقدمه :

تیروئید پراکسیداز (TPO) آنزیمی است که به طور 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)، اتوآنتی بادی 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 می باشد. در این کیت چاهکهای پلیت توسط آنتی ژن Thyroid proxidase پوشانده شده اند (coating). در هنگام آزمایش، نمونه های رقیق شده به داخل چاهکها ریخته می شوند. در صورت وجود آنتی بادی از کلاس IgG علیه مولکول Thyroid proxidase، این آنتی بادی ها به آنتی ژن کف چاهک متصل می گردند. پس از شستشو با افزودن آنتی بادی علیه مولکول های IgG انسانی که به آنزیم HRP متصل شده، در صورت وجود آنتی بادی های متصل شده به آنتی ژن های کف پلیت، آنتی بادی اختصاصی نشاندار شده علیه IgG نیز به آنها متصل می گردد. پس از شستشو، محلول رنگزا داخل چاهکها ریخته می شود که شدت رنگ آبی، متناسب با کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهکها است. افزودن محلول متوقف کننده، رنگ آبی را به زرد تبدیل می نماید که بهترین جذب نوری را در طول موج ۴۵۰ نانومتر دارد .

محتویات کیت :

۱) پلیت ۹۶ خانه حاوی چاهکهای پوشش داده شده با آنتی ژن TPO

۲) محلول رقیق کننده نمونه (Sample Diluent) : دو ویال ۵۰ میلی لیتری حاوی محلول جهت رقیق کردن نمونه ها.

۳) محلول آنزیم کونژوگه آماده مصرف (Enzyme Conjugate) : یک ویال ۱۲ میلی لیتری حاوی محلول آنتی هیومن آنتی بادی از کلاس IgG نشاندار شده با آنزیم پراکسیداز (آماده برای مصرف).

۴) سری استانداردها (Standards Set) : شامل ۶ ویال یک میلی لیتری استاندارد با 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 کنترل (Control Serum) : دو ویال یک میلی لیتری حاوی سرم کنترل با غلظتهای مشخص درج شده بر روی برچسب ویال .

۶) محلول رنگزای یک مرحله ای (Chromogen-Substrate): یک ویال ۱۲ میلی لیتری حاوی تترا متیل بنزیدین و آب اکسیژنه (آماده برای مصرف) .

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – فروردین ۱۴۰۱

۷) محلول شستشو (Wash Buffer) : یک ویال ۵۰ میلی لیتری حاوی محلول شستشوی غلیظ (۱۰x) دارای بافر فسفات و ۰/۵ ٪ توئین. جهت تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، مقدار مورد نیاز را با آب مقطر به نسبت ۱/۱۰ رقیق نمایید .

۸) محلول متوقف کننده (Stop Solution) : یک ویال ۱۲ میلی لیتری حاوی اسید کلریدریک ۱ نرمال .

۹) برچسب مخصوص پلیت .

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی باشند :

۱) دستگاه الایزاریدر دارای فیلتر ۴۵۰ نانومتر (و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس) .

۲) سمپلر های دقیق .

۳) آب مقطر .

نکات قابل ذکر برای مصرف کنندگان:

۱) محتویات این کیت تنها برای مصرف در همین کیت قابل استفاده هستند .

۲) این کیت صرفاً جهت اندازه گیری کمی آنتی بادی اختصاصی از کلاس IgG علیه Thyroid proxidase در نمونه سرم انسانی می باشد.

۳) از مخلوط کردن محتویات کیتها با شماره ساختهای مختلف جداً خودداری نمایید .

۴) کلیه مواد موجود در کیت که منشاء سرمی دارند از نظر وجود HBsAg وآنتی بادیهای HCV و HIV کنترل گردیده اند و فاقد این عوامل می باشند، جهت احتیاط بهتر است کاربرانی که با کیت کار می کنند از تماس مستقیم با مواد بپرهیزند .

۵) نمونه ها، استانداردها، کنترلها و چاهکهای استفاده شده، باید به عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند. تمام محلولهای واکنش گر و معرفها باید مطابق با مقررات ملی دفع پسماندهای عفونی امحاء شوند .

شرایط نگهداری :

۱) کیت را در یخچال بین دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری نمایید .

۲) چاهکها را در کیسه مخصوص پلیت همراه با نمگیر نگهداری نمایید. پایداری پلیت پس از باز کردن کیسه آن ۴ ماه می باشد .

۳) پایداری محتویات کیت تا پایان مدت انقضای نوشته شده بر روی هر یک از آنها می باشد .

۴) ممکن است در محلول شستشوی غلیظ کریستال تشکیل شود که این امر مشکلی را ایجاد نمی نماید. قبل از تهیه محلول شستشوی کار، برای حل شدن کریستالها، ویال را در ۳۷ درجه سانتی گراد 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 سانتی گراد قابل نگهداری و مصرف می باشد .

جمع آوری و آماده سازی 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 سانتی گراد نگهداری شود ولی برای نگهداری بیش از مدت دو روز باید از دمای ۲۰- درجه سانتی گراد استفاده گردد (در ضمن باید از Freeze-thaw نمودن نمونه پرهیز شود). از نمونه های مشکوک به آلودگی میکروبی جهت انجام آزمایش استفاده نشود.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – فروردین ۱۴۰۱

آماده سازی اولیه نمونه ها :

نمونه ها را با کمک محلول رقیق کننده نمونه به نسبت ۱ به 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 نمونه ها باید به درجه حرارت اتاق برسند .

۲) به محض شروع آزمایش کلیه مراحل باید بدون توقف انجام پذیرند .

۳) باید از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه استفاده شود .

۴) پس از افزودن محلول متوقف کننده، جذب نوری چاهکها حداکثر تا نیم ساعت قابل قرائت می باشد .

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 می باشد. بنابراین پیشنهاد می گردد 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 دقیق تر می شود .

مراحل انجام آزمایش:

۱) تعداد چاهکهای مورد نظر را انتخاب کرده 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 می گردد 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 سانتی گراد 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 می توان 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 می تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد. در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک ها 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 سانتی گراد 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) به همه چاهکها 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 الایزاریدر با فیلتر ۴۵۰ nm استفاده نموده و جذب نوری چاهکها را قرائت نمائید. توصیه میشود از فیلتر ۶۳۰ nm به عنوان فیلتر رفرانس استفاده گردد .

محاسبه نتایج :

از هر دستگاه الایزاریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج ۴۵۰ nm میتوان استفاده نمود .

۱) جذب نوری استانداردها و نمونه ها را به کمک دستگاه الایزاریدر در طول موج ۴۵۰ nm (و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس ۶۳۰ nm) بخوانید .

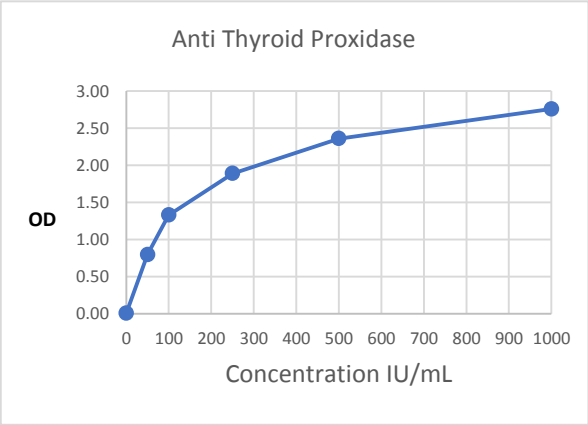
تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – فروردین ۱۴۰۱

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 طوریکه 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 .

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)
۰/۰۱	۰
۰/۸۰	۵۰
۱/۳۳	۱۰۰
۱/۸۹	۲۵۰
۲/۳۶	۵۰۰
۲/۷۶	۱۰۰۰



توجه: جذبهای نوری و منحنی مربوطه فقط به عنوان نمونه می باشد 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 می گردد :

– 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 طبیعی که توسط تستهای مکرر به روش الایزا بدست آمده به قرار زیر می باشد ولی پیشنهاد می گردد که هر آزمایشگاه مقادیر نرمال خود را بدست آورد :

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

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – فروردین ۱۴۰۱

محدودیت روش اندازه گیری:

نتایج تست می بایست همراه با سایر تست ها و روش های تشخیصی مورد تفسیر قرار گیرد. گاهی اوقات آنتی بادی های هتروفیل که در نمونه سرم برخی از بیماران دیده می شوند، با وجود مواد بلاک کننده قوی ضد آنها در محلول های کیت، امکان تداخل دارند.

شاخصهای اجرایی :

۱) حداقل مقدار قابل اندازه گیری:

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 می باشد.

۲) دقت آزمایش :

آزمایشهای اینترا – اسی (همخوانی غلظت مشخص از یک نمونه در یک سری آزمایش) و اینتر – اسی (همخوانی غلظت مشخص از یک نمونه در سری آزمایشات مختلف) با استفاده از ۴ سرم با غلظتهای مختلف Anti Thyroid proxidase IgG انجام گردید که در جداول ۱ و ۲ آمده است :

جدول شماره ۱ (اینترا – اسی) :

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (IU/ml)	SD	CV%
۱	20	2.23	0.12	5.38
۲	20	65.9	2.05	3.11
۳	20	271	12.48	4.61
۴	20	675	47.9	7.10

جدول شماره ۲ (اینتر – اسی) :

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (IU/ml)	SD	CV%
۱	20	2.81	0.23	8.19
۲	20	69.65	5.06	7.26
۳	20	298	23.6	7.92
۴	20	726.9	38.4	5.28

هر سری آزمایش بصورت Duplicate انجام شده است .

۳) ریکاوری آزمایش:

۳ نمونه سرم با مقادیر معلومی از Anti Thyroid proxidase IgG به ۴ سرم با غلظتهای مشخص Anti Thyroid proxidase IgG افزوده شد و ریکاوری محاسبه شده آنها عددی بین ۱۰±۱۰۰ درصد را نشان می دهد .
(جهت تست ریکاوری از استاندارد های کیت استفاده نشود.)

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – فروردین ۱۴۰۱

نمونه	مقدار ANTI THYROID PROXIDASE موجود در سرم (IU/ml)	مقدار ANTI THYROID PROXIDASE افزوده شده (IU/ml)	مقدار مورد انتظار (IU/ml)	مقدار بدست آمده (IU/ml)	ریکاوری (%)
۱	15	25	20	19.3	96.5
۱	15	145	80	86	107.5
۱	15	326	170.5	163	95.6
۲	68	25	46.5	49	105.3
۲	68	145	106.5	111	104.2
۲	68	326	197	185	93.9
۳	347	25	186	179	96.2
۳	347	145	246	255	103.6
۳	347	326	336.5	342	101.6
۴	825	25	425	412	96.9
۴	825	145	485	458	94.4
۴	825	326	575.5	593	103

٤) خطی بودن آزمایش :

به کمک محلول رقیق کننده نمونه ۳ نمونه سرم با غظت مشخص از Anti Thyroid proxidase IgG با رقت های ۱/۲، ۱/۴ ،۱/۸، ۱/۱۶ و ۱/۳۲ تهیه گردید و نتایج خطی بودن بر اساس ضریب رقت محاسبه شده عددی بین ۱۰±۱۰۰درصد را نشان می دهد.

نمونه	مقدار آنتی بادی موجود در نمونه رقیق نشده (IU/ml)	ریکاوری (%)				
		رقت ۱/۲	رقت ۱/۴	رقت ۱/۸	رقت ۱/۱۶	رقت ۱/۳۲
۱	756	93	104	101	100	98
۲	368	101	97	98.3	101	99
۳	169	105	98	104	103	100

٥) اختصاصیت آزمایش :

اختصاصیت این آزمایش به کمک سرمهائی با غلظتهای مشخص از مواد اضافه شده مختلف به آنها، جهت بررسی واکنشهای متقاطع با Anti Thyroid proxidase IgG بررسی شد که نتایج آن در جدول صفحه بعد آمده است:

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

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

صحت آزمایش :

جهت بررسی صحت آزمایش : همبستگی بر اساس پروتوکل CLSI – EP-09-A3 به طور همزمان بر روی ۱۲۰ نمونه سرم در سطوح مختلف با کیت الایزای تجاری معتبر و کیت الایزای پیشتاز طب انجام گردید که نتایج این بررسی ها همبستگی حدود ۹۴ درصد را نشان میدهد.

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

تست تداخل :

جهت بررسی تاثیر عوامل مداخله گر بر روی نتایج سرم ها پس از اینکه عوامل مداخله گر بالقوه (هموگلوبین، تری گلیسرید و بیلی روبین) با غلظت های مشخص از آنها به نمونه سرم اضافه گردید، غلظت Anti Thyroid proxidase IgG با حالت قبل از افزودن عوامل مداخله گرمقایسه می گردد. این مطالعه با استفاده از راهنمای NCCLS EP7-P انجام شد.

نتایج بدست آمده از تست تداخل در جدول ذیل آمده است:

آنالیت مداخله گر	غلظت آنالیت مداخله گر	ارزش نمونه قبل از افزودن آنالیت مداخله گر(IU/ml)	ارزش نمونه بعد از افزودن آنالیت مداخله گر(IU/ml)	تفاوت نتایج (٪)
هموگلوبین	1 mg/ml	1.47 42.17 133.5	1.43 42.25 135.4	−2.7 0.19 1.4
تری گلیسرید	3000 mg/dl	1.47 42.17 133.5	1.35 45.2 131	−8.16 7.18 −1.87
بیلی روبین	20 mg/dl	1.47 42.17 133.5	1.49 44.3 138	1.36 5.05 3.37

REFERENCES:

1) Volpe R,"Auto immune disease of the endocrine system",Boca Raton FL, CRC Press(1990).
2) MakT, Clin Chem, 40, 2128 (1994).
3) Volpe R,Clin Chem,40 2132 (1994).

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش اول – فروردین ۱۴۰۱

4) 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).
5) Beever K,et al, Clin Chem, 35, 1949-54 (1989).
6) Chiavato L, Pinchera A, The microsomal-proxidase antigen: modulation of its expression in thyroid cells”, Auto immunity, 10,319-31 (1991)
7) Ekholm R, Biosysnthesis of thyroid hormones”. Vitam Horm,39,175-229 (1982).
8) Portman L, hamada N, Heinrich G, Degroot LJ, “Anti Thyroid Proxidase antibody in patients with autoimmune thyroid disease : Possible identity with anti-microsomal antibody”. Jof Clin Endocrinology & Metabolism. 61,1001-3 (1985).
9) Degroot LJ, Heterogeneity human antibodies to TPO Thyroproxidase”. Thyroid Autoimmunity,207,177-182 (1990).
10) Nunez J. Pommier J,”Formation of thyroid hormones”, Vitam Horm,39,175-229(1982).

روش انجام آزمایش سنجش کمی آنتی بادی IgG علیه Thyroid peroxidase به صورت شماتیک

نمونه ها را با کمک محلول رقیق کننده نمونه به نسبت ۱ به ۱۰۱رقیق کنید .

چاهکهای کوت شده با آنتی ژن THYROID PEROXIDASE			
محلولها	استانداردها	سرم کنترل	نمونه
استانداردها	۱۰۰ میکرولیتر	–	–
سرم کنترل	–	۱۰۰ میکرولیتر	–
نمونه	–	–	۱۰۰ میکرولیتر
دهانه چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهکها را خالی کنید . طبق دستور شستشو ۵ بار چاهکها را بشویید.			
آنزیم کونژوگه	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
دهانه چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهکها را خالی کنید.طبق دستور شستشو ۵ بار چاهکها را بشویید.			
محلول رنگزا	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه کنید.			
محلول متوقف کننده	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
جذب نوری چاهکها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر (و درصورت امکان ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس) قرائت کنید.			

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش اول – فروردین ۱۴۰۱