

[药品名称]

通用名：碘<sup>125</sup>I-甲状腺过氧化物酶抗体放射配体分析试剂盒

(放射配体分析法)

英文名：<sup>125</sup>I- Thyroid Peroxidase Antibody Radioligand assay Kit

简称：<sup>125</sup>I-TPO 放射配体分析试剂盒

[使用目的]

用于人血清样本中甲状腺过氧化物酶抗体(TPO)的定量测定

[用途]

**anti-TPO**用于超灵敏定量检测人血清中甲状腺过氧化物酶自身抗体(**anti-TPO**)。TPO是甲状腺细胞中的膜结合酶，它是三种甲状腺抗原之一，对甲状腺激素合成有重要作用。

自身免疫性甲状腺疾病的一个特点就是存在甲状腺抗原的自身抗体。

因而，**anti-TPO**检测有助于显示慢性自身免疫性甲状腺炎和对甲状腺功能减退分型。**anti-TPO**检测对甲亢也有价值，尤其是临床症状有怀疑而**TSH-REZAK®**检测阴性的病例。另外对甲状腺功能正常的甲状腺肿排除并生的甲状腺自身免疫病有帮助。

[试验原理]

**anti-TPO**是一种基于放射配体检测原理的直接检测方法。用过量的标记物(高度纯化的<sup>125</sup>I-hTPO)与样品的抗-TPO自身抗体结合。

标记物必须达到和纯度、酶特性、快速反应动力学、零水平的交叉反应、稳定性等相关的各项指标的最高要求。这些是决定标记物特异性结合的主要先决条件，即标记物只能被样品的抗-TPO自身抗体识别。

然后在试剂A的参与作用下，形成三明治式复合体系，原因是试剂A会被<sup>125</sup>I-hTPO/抗-TPO免疫复合体系的免疫球蛋白Fc部分结合。其中试剂A部分连接到细胞上，从而形成一个固相，进而形成三明治体系，以离心方法分离。吸去包含未结合标记物的上清液后，试管中沉淀部分的放射性即可被测量。

样品中抗-TPO浓度越高表示标记物特异性结合越多，即结合部分(B)的计数(CPM)是和抗-TPO浓度成正比。在样品中没有**anti-TPO**情况下无免疫体系形成，因为标记物仅结合**anti-TPO**，而不结合试剂A。

通过以CPM或B/T%对应相应标准点浓度所做标准曲线，可以直接读出在测量范围5—2000 U/ml的样品的浓度值。

[试剂主要组成成分]

- 1、 标记物 (<sup>125</sup>I-TPO, 人) <68.5 kBq/瓶, 2 瓶, 5.5ml/瓶, 红色液体。
- 2、 试剂A悬液 (沉淀剂) 2 瓶,冻干  
用缓冲液溶解: 2.8 ml / 瓶, 黄色。  
试剂A静置下会出现沉淀,  
用之前需反复混匀10—20秒
- 3、 缓冲液 (稀释病人样本及反应复合物)  
2瓶, 110ml/瓶, 黄色。

- 4、抗-TPO-标准品(A~E) 5 瓶, 0.5 ml / 瓶,  
浓度: 5, 13, 60, 300, 2000 U/ml
- 5、抗-TPO-质控血清 (稀释人血清), L-H, 2 瓶; 0.5 ml / 瓶,  
可直接用(已稀释)  
浓度值: L:4.86~20.46 U/ml H:186.5~395.9 U/ml

#### [样本要求]

#### 1、样本收集和保存:

静脉穿刺取血。凝血后离心分离血清。血浆同样可以应用在anti-TPO。不要用高脂血或严重溶血的样本。

样本2 - 8 °C下最多贮存3天, 长期贮存要在- 20 °C。

避免反复冻融, 如需要先冻起一部分。

#### 2、使用前准备

试验前, 恢复样本至室温, 小心摇匀血清样本。

**注意:** 试验前, 病人样本要按体积比1: 20稀释, 如50微升样本加1毫升缓冲液 (试剂盒内的标准品和质控品已稀释)

#### [实验方法]

用缓冲液按1: 20体积比稀释未知样品, 如: **50 µl 血清 + 1 ml 缓冲液**

1. 试管编号.
  2. 顺序加液
    - 50 µl 标准品,
    - 50 µl 质控血清,
    - 50 µl 已稀释的病人血清.
  3. 各管均加100 µl 标记物,
- 立即进行步骤4.**
4. 每管加50 µl 试剂A悬液, 充分混匀。  
注意: 试剂A用前一定要倒置混匀后, 立即加入。
  5. 振荡温育60分钟 (室温).
  6. 每管加1 ml 缓冲液.
  7. 在至少3500转/分下, 离心除T管外, 各管20分钟。
  8. 吸去上清液。

**注意:** 因离心后留在管底部的沉淀不太牢固, 故再吸去上清液时小心不要碰到沉淀, 本实验不得采取倾倒方式, 取出上清液。

9. 测各管计数CPM.  
推荐测量时间: 1 分钟

#### [实验过程中应注意]

- 1、γ-计数器本底计数应≤150CPM/分, 效率应≥75%;
- 2、如果某一个样本的测定值高于最高浓度的标准品浓度, 用缓冲液重新稀释样本后重新测试, 测试结果乘以相应的稀释倍数。
- 3、加入放射性标记物时, 应做好防护、小心谨慎, 以避免造成放射性污染;

[操作流程]

(单位:  $\mu\text{L}$ )

	标 准 品					质控品和病人样本						
	T	A	B	C	D	E	L	H	1	2	3	...
标准品 A-E		50	50	50	50	50						...
质控品和病人样品							50	50	50	50	50	...
$^{125}\text{I-TPO}$	←————— 100 —————→											
试剂 A	←————— 50 —————→											
	室温 (17-27°C) 振摇 1 小时											
缓冲液	←————— 1000 —————→											
	混匀, 离心 3500 转 / 分, 20 分钟, 吸出上清液											
	$\gamma$ 计数 1 分钟											

[测定结果的计算]

- 1、 本实验需用空白管代替“0” 绘制标准曲线。
- 2、 适合三明治式检测法 (IRMA) 的软件进行数据处理, 根据标准品1—5的 CPM复管平均值及相应标准点浓度绘出标准曲线。
- 3、 再根据质控血清和样品的CPM均值直接读出其浓度值 (U/ml)。
- 4、 如果样品按1: 20稀释, 可直接得出结果, 因为标准品也被同样比例稀释。
- 6、 不允许测可能在2000 U/ml以上的样品。如样品浓度过高, 可加大稀释度。如估计在2000—4000 U/ml的样品按1: 40稀释, 结果再乘以2。

[产品性能指标]

- 1、 最高标准点与总放比值(B5/T %)一般在45%到70 %

**2、 标准依据:**

anti-TPO是以NIBSC参考血清66 / 387为准定标。该参考血清是为微神经细胞抗体常规检测制定(NIBSC: Nat.Inst. for Biol. Standards and Control, Hampstead, London, U.K.)

**3、 特异性**

未发现与Tg自身抗体或TSH受体自身抗体有交叉反应。

**4、 灵敏度 (最小可检出度)**

现阶段任何检测方法最适当也最符合统计学规律的最小可检测度即所谓的实用检测灵敏度。

实用检测灵敏度: 批内变异系数不大于10%, 批间变异系数不大于20%情况下所能测得的最小浓度值。在正确操作anti-TPO情况下, 该值约为5.61 U/ml。

低于这个浓度值的检测结果不符合GLP(Good Laboratory Practice)的可靠性统计学标准, 在统计学上与0试样的区别是不能确定的。

而高于5.61 U/ml的试样是可以被检测的。

## 6、正常参考值

<b>anti-TPO</b>	<b>U/ml</b>
阴性	≤ 40
疑似区域	40 - 100
阳性	> 100

建议各实验室应建立本实验室的正常值，以上数据仅供参考。

自身免疫性甲状腺炎阳性率大于90%，甲亢阳性率大于70%。

亚急性甲状腺炎一般检测为阴性。

即便阳性值较低也表明有自身免疫情况出现。然而，这并不意味着一定存在或者说确诊为某种甲状腺功能紊乱。

[规格] 50 人份 / 盒、100 人份 / 盒

[储藏] 冷冻组份-20℃,冷藏组份 2~8℃。

[有效期] 1 个月

[使用范围] 仅供体外诊断使用

[批准文号]

[生产企业] 天津市协和医药科技有限公司

[地址] 天津市南开区白堤路 238 号

[电话] 8008180100    022 87891880    022 87893072