



IVD

CE

Tg-S IRMA

R-CM-100

Version : 230123

Date of issue : 23/01/2023

Revision date: 23/01/2023

History

Summary of change:

Current Version: 230123
New logo

ENGLISH

IMMUNORADIOMETRIC ASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE HUMAN THYROGLOBULIN IN HUMAN SERUM AND PLASMA SENSITIVE METHOD.

R-CM-100 - 96 Determinations

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

1. CLINICAL APPLICATIONS

Thyroglobulin (hTg) is the major component of colloid in thyroid follicles. hTg is a glycoprotein of 660 kda. hTg being specific of the thyroid cell, the determination of its blood concentration is thus of great significance for the diagnosis of thyroid diseases.

In areas of endemic goiter, a majority of affected persons had substantially higher thyroglobulin levels than normal controls. However elevated thyroglobulin levels are also observed among patients with sporadic goiter in area where iodine intake is substantially higher. In both situations, these elevated values are correlated with the development of the goiter itself.

During the initial phase of subacute thyroiditis, the thyroglobulin levels are markedly elevated. Persistent high hTg levels at the end of a cure by antithyroid drug are considered predictive for a relapse of hyperthyroidism at the withdrawal of therapy. hTg determination is thus part of the monitoring of Graves' disease and its management.

2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

This test kit is an immunoradiometric assay (IRMA) based on coated-tubes with monoclonal antibodies directed against distinct epitopes of the molecule of Tg.


Three capture antibodies are coated on the inner wall of tubes. Tg of the calibrators or of the samples is captured by these antibodies. Addition of the fourth antibody labeled with ¹²⁵Iodine completes the system, allowing the formation of a bridge between the coated antibodies and the labeled antibody.

After washing, the remaining radioactivity bound to the tubes is directly related to the concentration of Tg in the calibrators or samples.

The careful choice of the four monoclonal antibodies allows high specificity and high sensitivity and avoids excess of specificity which is sometimes reproached to immunometric assays with only two monoclonals.

3. REAGENTS PROVIDED WITH THE KIT

- The reagents are sufficient for 96 determinations.
- Store the kit and reagents at 2-8°C.
- The expiration date of each reagent is shown on the label.

Reagents	96 Tests Kit	Reconstitution		
 Tubes coated with three anti-human thyroglobulin mouse monoclonal antibodies.	2 x 48	Ready to Use		
<table border="1" data-bbox="76 1675 252 1729"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> TRACER : anti-human thyroglobulin mouse monoclonal antibody. Preservative: NaN ₃ (<0.1%),	Ab	¹²⁵ I	1 Vial 27.5 ml ±480 kBq	Ready to Use
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0] Calibrator Zero Preservative: NaN ₃ (<0.1%)	1 Vial 3 ml	Ready to Use		
[CAL]N] Calibrator - N = 7 Human thyroglobulin in phosphate buffer. Preservative: NaN ₃ (<0.1%)	7 Vials 1 ml	Ready to Use		

[CONTROL] Control human thyroglobulin in phosphate buffer containing proteins and protein stabilizers. Preservative: NaN ₃ (<0.1%).	1 Vial 1 ml	Ready to Use			
<table border="1" data-bbox="842 235 992 264"> <tr> <td>DIL</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Diluent Buffer phosphate buffer solution with BSA and preservative NaN ₃ (< 0.1 %).	DIL	BUF	1 Vial 25 ml	Ready to Use	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="842 347 1088 376"> <tr> <td>RECOVERY</td> <td>SOLN</td> </tr> </table> Recovery Solution human thyroglobulin in phosphate buffer containing proteins and protein stabilizers. The concentration of thyroglobulin is variable from lot to lot. Please refer to the label of the bottle for the exact concentration. Preservatives : NaN ₃ < 0.1 %.	RECOVERY	SOLN	1 Vial 4.2 ml	Ready to Use	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="842 548 1120 577"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Washing Solution (50 x concentrated) Tris-HCl buffer with detergent and preservative NaN ₃ (<0.1%).	WASH	SOLN	CONC	1 Vial 20 ml	Bring to 1000 ml with distilled water
WASH	SOLN	CONC			

- Control & Calibrators :** For the exact value, refer to the value written on the vial label. Calibrator 1 may be used only with the sensitive method.
The calibrators are calibrated against the hTg european reference preparation MRC457.
- Coated Tubes:** Unused tubes must be stored at 2-8°C , protected from moisture.
- Washing Solution (50 x concentrated):** The diluted washing solution is stable for 2 months at 2-8°C.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Plastic test tubes
- Test tube racks.
- Adjustable, automatic micropipettes with disposable tips.
- Vortex mixer.
- Graduated cylinder.
- Aspiration pump or automated washing device.
- Scintillation gamma counter.
- Distilled water.
- Orbital shaker adjustable at 150-450 rpm.

5. WARNINGS AND PRECAUTIONS FOR USERS

For *in vitro* diagnostic use.

Only experienced laboratory personnel should use this test and handling should be in agreement with GLP.

Radioactive Material - Not for Internal or External Use in Humans or Animals.

In order to obtain reproducible results, the following rules must be observed :

- Do not mix reagents of different lots.
- Do not use reagents beyond their expiry date.
- Use thoroughly clean glassware.
- Use distilled water, stored in clean containers.
- Avoid any contamination among samples; to this purpose disposable tips should be used for each sample and reagent.

Safety :

This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days) ,emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations. This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area. away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative

for HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up. Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

For more information, see Material Safety Data Sheet (MSDS).

6. SPECIMEN COLLECTION

Lipemic sera may give aberrant results. Samples may be stored at 2°-8°C for up to 24 hours. For long term storage, samples should be divided in aliquots and frozen at -20°C. Avoid repeated freezing and thawing. After thawing and before use, mix samples by inversion.

Although interferences from anti-thyroglobulin autoantibodies (TgAb) have been greatly reduced by a careful choice of the monoclonal antibodies involved in the assay, it is advisable to verify the validity of the thyroglobulin result by performing a recovery test as described below

Serum or EDTA plasma provide similar results.

$$Y (\text{plasma}) = 0.99x (\text{serum}) + 0.44 \quad r = 0.99 \quad n = 20$$

7. ASSAY PROCEDURE

- Bring all reagents and samples to warm up at room temperature (18-25°C).
- Mix samples by gentle agitation before use.
- For all calibrators, a duplicate measure is recommended before use.

A. SENSITIVE ASSAY PROCEDURE

1. Prepare tubes to accommodate Calibrators, test Sera/Plasmas, Recoveries and Control in duplicate. Use non sensitized polystyrene tubes for the measurement of the Total activity.
2. Pipette 100 µl of the Calibrators, Samples, Spiked samples and Control into the appropriate coated tubes. Pipette directly to the bottom of the tubes.
3. Add 100 µl of Diluent to all these tubes, except the tubes for Total activity.
4. Mix gently the tubes on vortex and incubate for 2 hours on an orbital shaker set at 150-450 rpm.
5. At the end of the incubation, aspirate completely the contents of the tubes. Wash once the tubes with 2 ml washing solution. Aspirate completely and remove any residual moisture.
6. Add 250 µl of radioactive tracer (red colored) to all the tubes.
7. Incubate the tubes for 18-24 hours at room temperature (18-25°C).
8. Aspirate carefully the incubation mixture from all tubes except those of Total activity.
9. Wash the tubes twice with 2 ml of washing solution to all tubes except total tubes. Aspirate completely the contents of the tubes and remove any residual moisture.
10. Count the radioactivity bound to the tubes for 1 minute in a gamma counter. We suggest to control the background of the instrument before counting the assay. In order to avoid variations in the sensitivity of the system, the background must be reduced to a minimum or adjusted properly.

SCHEME OF THE ASSAY WITH SENSITIVE PROCEDURE

Tubes Reagent	Total Activity	Calibrators	Control	Samples	Recovery
Calibrators	-	100 µl	-	-	-
Control	-	-	100 µl	-	-
Samples	-	-	-	100 µl	-
Spiked samples*	-	-	-	-	100 µl
Diluent	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
- Mix on vortex and incubate for 2 h at room temperature (18-25°C) shaking (150 – 450 rpm). - Aspirate - wash 1 x 2 ml - aspirate					
Tracer	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Incubate: 18 – 24 h at room temperature (18-25°C) - Aspirate - wash 2 x 2 ml - aspirate - Count					

B. NON-SENSITIVE ASSAY PROCEDURE

1. Prepare tubes to accommodate Calibrators, test Sera/Plasmas, Recoveries and Control in duplicate. Use non sensitized polystyrene tubes for the measurement of the Total activity.
2. Pipette 50 µl of the Calibrators, Samples, Spiked samples and Control into the appropriate coated tubes. Pipette directly to the bottom of the tubes.
Do not use the calibrator 1.
3. Add 200 µl of Diluent to all these tubes, except the tubes for Total activity.
4. Mix gently the tubes on vortex and incubate for 2 hours on an orbital shaker set at 150-450 rpm.
5. At the end of the incubation, aspirate completely the contents of the tubes. Wash once the tubes with 2 ml of washing solution. **Aspirate completely and remove any residual moisture.**
6. Add 250 µl of radioactive tracer (red colored) to all the tubes.
7. Incubate the tubes for 18-24 hours at room temperature (18-25°C).
8. Aspirate carefully the incubation mixture from all tubes except those of Total activity.
9. Wash the tubes twice with 2 ml of washing solution to all tubes except total tubes. **Aspirate completely the contents of the tubes and remove any residual moisture.**
10. Count the radioactivity bound to the tubes for 1 minute in a gamma counter. We suggest to control the background of the instrument before counting the assay. In order to avoid variations in the sensitivity of the system, the background must be reduced to a minimum or adjusted properly.

SCHEME OF THE ASSAY WITH NON-SENSITIVE PROCEDURE

Tubes Reagent	Total Activity	Calibrators	Control	Samples	Recovery
Calibrators	-	50 µl	-	-	-
Control	-	-	50 µl	-	-
Samples	-	-	-	50 µl	-
Spiked samples*	-	-	-	-	50 µl
Diluent	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Mix on vortex and incubate for 2 h at room temperature shaking (18-25°C) (150-450 rpm). - Aspirate - wash 1 x 2 ml - aspirate					
Tracer	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Incubate: 18 – 24 h at room temperature (18-25°C) - Aspirate - wash: 2 x 2 ml - aspirate - Count					

C. RECOVERY TEST

1. **Preparation of the recovery samples (spiked samples*).**
Dilute 1/2 the samples with the contents of the recovery vial, for example 125 µl sample (75 µl with the non-sensitive method) + 125 µl (75 µl with the non-sensitive method) recovery solution. The thyroglobulin concentration in the recovery solution is variable from lot to lot. Please refer to the label of the bottle for the exact concentration. The so prepared samples are the "spiked samples".

2. Assay of the unspiked samples and of the spiked samples.

In the same serie, measure thyroglobulin in **both** the unspiked and spiked samples.

3. Calculation.

The recovery percentage is calculated as follow :

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Value of the spiked sample}}{\text{(Value of the unspiked sample + concentration of the recovery solution)/2}} \times 100$$

If there is no interference, the recovery will be near 100 %. If the recovery is lower than 80 %, an interference of TgAb may be supposed and should be verified by measuring TgAb in the sample. If the recovery is higher than 120 %, the observed interference is not due to TgAb.

8. CALCULATION OF RESULTS

Draw the calibration curve on log/lin graph by plotting the B/T (%) obtained for each calibrator (y-axis) against the relative concentration (x-axis). Calculate the B/T (%) of each sample and read the concentration by interpolating on the calibration curve.

EXAMPLE OF CALCULATION

The values reported below must be considered as an example and may not be used in place of experimental data.

Description	Average cpm.	B/T (%)	hTg conc. (ng/ml)
Total Activity (T)	247160	-	-
CAL 0	110	0.00	0
CAL 1	297	0.08	0.75
CAL 2	525	0.17	1.5
CAL 3	1351	0.50	5
CAL 4	4022	1.58	15
CAL 5	12023	4.82	50
CAL 6	45802	18.49	200
CAL 7	110743	44.76	600
CONTROL	6890	3.1	27.0

INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control are not within the range specified, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises

9. REFERENCE VALUES

It is recommended that each laboratory determines its own reference interval. Values reported below are only indicative.

The normal values for Thyroglobulin have been determined on 99 samples and Thyroglobulin levels have been found **less than 50 ng/ml**.

10. PERFORMANCE OF THE ASSAY

SPECIFICITY

Samples were processed in assays which included one to one dilution with the Thyroglobulin Recovery. The percentages of recovery were calculated. This evaluation was made with 100 samples containing no anti-thyroglobulin auto-antibodies (TgAb negative) and 100 samples containing various levels of anti-thyroglobulin auto-antibodies (TgAb positive) ranging from 50 to more than 5,000 IU/ml.

The mean percentages of recovery of "TgAb negative" and "TgAb positive" are 91 and 85%, respectively. Therefore, no cross-reaction is observed with TgAb present in human serum.

However, a recovery test is recommended for each studied sample to validate the results since TgAb vary from patients in terms of quality and quantity (cfr. Section 7.C).

SENSITIVITY

Analytical sensitivity

The LoB (limit of blank) was calculated by measuring the blank several times and was calculated as the mean + 2 standard deviations of the distribution of the test values ; the LoB was calculated to be 0.18 ng/ml. The LoD (limit of detection) was calculated as the LoB + 1.645 standard deviations of a low concentration sample tested in 11 different run. The LoD was calculated to be 0.42 ng/ml.

The LoQ (limit of quantification) was calculated by testing 5 low values samples, 11 times. The LoQ was calculated to be 0.69 ng/ml.

PRECISION

Precision was evaluated upon intra- and inter-assay variability at different analyte concentrations.

Intra-assay

Serum	Mean	±	S.D.	C.V. (%)	N
1	9.4	(ng/ml)	0.2	2.4	20
2	51.9	±	0.8	1.6	20
3	112.8	±	1.7	1.5	20

Inter-assay

Serum	Mean	±	S.D.	C.V. (%)	N
1	9.2	(ng/ml)	0.2	2.2	9
2	51.6	±	1.7	3.3	9
3	215.5	±	4.8	2.2	9

ACCURACY

The accuracy of the method has been evaluated by analytical recovery and parallelism tests.

Analytical recovery

Sample	Expected (ng/ml)	Measured (ng/ml)	Recovery (%)
1	27.8	28.1	103.2
	28.2	29.6	105.0
	28.6	29.3	102.4
	30.3	31.5	104.0
	35.3	36.5	103.4
	52.8	51.4	97.3
	127.8	113.9	89.1
	327.8	327.6	99.9
2	27.0	30.9	114.4
	27.4	29.5	107.7
	27.8	29.3	105.4
	29.5	31.5	106.8
	34.5	35.5	102.9
	52.0	51.8	99.6
	127	113.8	89.6
	327	312.5	95.6

Parallelism

Sera with high analyte concentration were tested at different dilutions with the Zero Calibrator.

Dilution	Expected (ng/ml)	Measured (ng/ml)	Recovery (%)
S1 undiluted	-	161	-
1/2	80.5	88.1	109.4
1/4	40.2	44.7	111.0
1/8	20.1	24.5	121.6
1/16	10.1	12.0	119.3
1/32	5.0	6.4	127.2
S2 undiluted	-	241.5	-
1/2	120.8	121.2	100.4
1/4	60.4	64.0	106.0
1/8	30.2	33.3	110.3
1/16	15.1	15.6	103.4
1/32	7.5	8.7	115.1

HOOK EFFECT

Samples spiked with purified human thyroglobulin up to 100,000 ng/ml gave values higher than the last calibrator in both procedures.

Other translations of this Instruction for Use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

FRANÇAIS

DOSAGE RADIO-IMMUNOMETRIQUE POUR LA DETERMINATION QUANTITATIVE DE LA THYROGLOBULINE HUMAINE DANS LE SERUM HUMAIN ET LE PLASMA, METHODE SENSIBLE R-CM-100 - 96 Déterminations

UNIQUEMENT À USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

1. APPLICATIONS CLINIQUES

La thyroglobuline (hTg) est le composant principal de la colloïde des follicules thyroïdiens. La hTg est une glycoprotéine de 660 kda. La hTg étant spécifique de la cellule thyroïdienne, la détermination de sa concentration sanguine a donc une grande signification dans le diagnostic des maladies thyroïdiennes.

Dans les zones de goitre endémique, la majorité des personnes affectées ont des taux de thyroglobuline beaucoup plus élevés que les contrôles normaux. Cependant, des taux de thyroglobuline élevés sont également observés parmi les patients ayant un goitre sporadique dans des zones où la prise d'iode est beaucoup plus élevée. Dans les deux cas, ces valeurs élevées sont corrélées au développement du goitre lui-même.

Pendant la phase initiale de la thyroïdite subaiguë, les taux de thyroglobuline sont nettement élevés. On considère que la persistance de taux élevés à la fin d'un traitement par un médicament antithyroïdien prédit une rechute de l'hyperthyroïdie à l'arrêt de la thérapie. La détermination de l'hTg fait donc partie intégrante du suivi de la maladie de Grave et de son traitement.

2. PRINCIPE DE L'ANALYSE

Cette trousse d'analyse est un dosage radio-immunométrique (IRMA) basé sur des tubes tapissés d'anticorps monoclonaux dirigés contre différents épitopes de la molécule de Tg.

Trois anticorps de capture sont adsorbés sur la paroi intérieure des tubes. La Tg des calibrateurs ou des échantillons est capturée par ces anticorps.


L'addition d'un quatrième anticorps marqué à l'iode¹²⁵ complète le système, permettant la formation d'un pont entre les anticorps adsorbés et l'anticorps marqué.

Après lavage, la radioactivité liée restant dans les tubes est directement proportionnelle à la concentration en Tg des calibrateurs ou des échantillons.

Le choix judicieux des quatre anticorps monoclonaux permet une spécificité et une sensibilité élevées et évite l'excès de spécificité qui est parfois reprochée aux dosages immunométriques n'utilisant que deux anticorps.

3. RÉACTIFS FOURNIS AVEC LA TROUSSE

- Les réactifs sont suffisants pour 96 déterminations.
- Stocker les trousse et les réactifs entre 2 et 8°C.
- La date d'expiration de chaque réactif est inscrite sur l'étiquette.

Réactifs	96 Tests	Reconstitution		
 Tubes coatés avec trois anticorps murins monoclonaux anti-thyroglobuline humaine.	2 x 48	Prêt à l'emploi		
<table border="1" data-bbox="76 1736 252 1792"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> TRACER : anticorps murins monoclonaux anti-thyroglobuline humaine. Conservateur: NaN3 (<0.1%),	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 27.5 ml ±480 kBq	Prêt à l'emploi
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0 Calibrateur Zéro Conservateur: NaN3 (<0.1%)	1 flacon 3 ml	Prêt à l'emploi		
[CAL]N Calibrateurs – N = 7 Thyroglobuline humaine dans tampon phosphate. Conservateur: NaN3 (<0.1%)	7 flacons 1 ml	Prêt à l'emploi		

[CONTROL] Contrôle Thyroglobuline humaine dans tampon phosphate contenant des protéins et des stabilisateurs de protéines. Conservateur: NaN3 (<0.1%).	1 flacon 1 ml	Prêt à l'emploi			
<table border="1" data-bbox="837 235 989 268"> <tr> <td>DIL</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Tampon de dilution Solution tampon phosphate avec BSA et conservateur NaN3 (< 0.1 %).	DIL	BUF	1 flacon 25 ml	Prêt à l'emploi	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="837 347 1085 380"> <tr> <td>RECOVERY</td> <td>SOLN</td> </tr> </table> Solution de Reconstitu on Thyroglobuline humaine dans tampon phosphate contenant des protéins et des stabilisateurs de protéines. La concentration de thyroglobuline est variable d'un lot à l'autre. Veuillez vous référer à l'étiquette du flacon pour connaître la concentration exacte. Conservateurs : NaN3< 0.1 %.	RECOVERY	SOLN	1 flacon 4.2 ml	Prêt à l'emploi	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="837 593 1117 627"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Solution de lavage concentrée (50 x concentrated) Tampon tris-HCl avec détergent et conservateur NaN3 (<0.1%).	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 20 ml	Porter à 1000ml avec de l'eau distillée
WASH	SOLN	CONC			

- Contrôle et Calibrateurs:** Pour la valeur exacte, se référer à l'étiquette du flacon.
Le calibrateur 1 ne peut être utilisé qu'avec la méthode sensible.
Les calibrateurs sont calibrés par rapport à la préparation hTg européenne de référence MRC457
- Tubes coatés:** Les tubes non utilisés doivent être conservés entre 2 et 8°C, protégés de l'humidité.
- Solution de lavage (concentrée 50 x):** Porter à 1000 ml avec de l'eau distillée. La solution de lavage diluée est stable pendant 2 mois entre 2 et 8°C.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Tubes à essai en plastique.
- Portoir pour tubes à essai.
- Micropipettes automatiques réglables avec pointes jetables.
- Vortex.
- Cylindre gradué.
- Pompe d'aspiration ou dispositif de lavage automatique.
- Compteur de rayons gamma.
- Eau distillée.
- Agitateur orbital réglé à 150-450 tpm.

5. AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce matériel doit exclusivement être utilisé à des fins de diagnostic in vitro.

Le kit est réservé à une utilisation professionnelle. Il doit donc être utilisé exclusivement par du personnel de laboratoire expert, conformément aux normes GLP.

Matériel radioactif - Ne pas administrer par voie interne ou externe à des êtres humains ou à des animaux.

Afin d'obtenir des résultats reproductibles, les règles suivantes doivent être respectées :

- Ne pas mélanger les réactifs de lots différents.
- Ne pas utiliser de réactifs après leur date de péremption.
- Utiliser de la verrerie parfaitement propre.
- Utiliser de l'eau distillée conservée dans des réservoirs propres.
- Éviter toute contamination des échantillons. Pour ce faire, utiliser des embouts jetables pour chaque échantillon et réactif.

Sécurité :

Pour utilisation en diagnostic in vitro uniquement.
Cette trousse contient de l'¹²⁵I (demi-vie : 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35,5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées ; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux. Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de

laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate

Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité.

Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.

L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

Pour plus d'informations, consultez la fiche signalétique (MSDS).

6. ÉCHANTILLONS À TESTER

Les sérums lipémiques peuvent donner des résultats aberrants. Les échantillons peuvent être conservés entre 2° et 8°C pendant 24 heures. Pour une conservation de longue durée, les échantillons doivent être divisés en aliquotes et congelés à -20°C. Éviter les congélation-décongélation à répétition. Après décongélation et avant l'emploi, mélanger les échantillons en les renversant.

Bien que les interférences dues aux auto-anticorps anti-thyroglobulines (TgAb) aient été fortement réduites par le choix judicieux des anticorps monoclonaux incorporés dans l'analyse, il est conseillé de vérifier la validité des résultats de la thyroglobuline en réalisant le test de récupération décrit plus bas.

Le sérum ou le plasma EDTA donne des résultats similaires.

$$Y (\text{plasma}) = 0,99x (\text{sérum}) + 0,44 \quad r = 0,99 \quad n = 20$$

7. RÉALISATION DU DOSAGE

- Amener tous les réactifs et tous les échantillons à température ambiante (18-25°C).
- Mélanger les échantillons en les agitant doucement (avant de les utiliser).
- Pour tous les calibrateurs, un dosage en double est recommandé.

A. PROCÉDURE D'ANALYSE SENSIBLE

1. Préparer des tubes pour recevoir les calibrateurs, les sérums/plasmas à analyser, les récupérations et le contrôle en double. Utiliser des tubes en polystyrène non sensibilisés pour la mesure de l'activité totale.

2. Pipeter **100 µl** des calibrateurs, échantillons, échantillons enrichis et contrôle dans les tubes coatés correspondants. Pipeter directement dans le fond des tubes.

3. Ajouter **100 µl** de diluant dans tous ces tubes excepté les tubes pour la mesure de l'activité totale.

4. **Mélanger doucement les tubes au vortex et incubé pendant 2 heures** sur un agitateur orbital réglé à 150-450 tpm.

5. À la fin de l'incubation, aspirer complètement le contenu des tubes. Laver une fois les tubes avec **2 ml** de solution de lavage. **Aspirer complètement et retirer toute humidité résiduelle.**

6. Ajouter **250 µl** de traceur radioactif (coloré en rouge) à tous les tubes.

7. Incuber les tubes pendant **18 à 24 heures** à température ambiante (18-25°C).

8. Aspirer soigneusement le mélange incubé de tous les tubes excepté ceux pour la mesure de l'activité totale.

9. Laver tous les tubes deux fois avec **2 ml** de solution de lavage excepté les tubes de mesure de l'activité totale. **Aspirer complètement le contenu des tubes et retirer toute humidité résiduelle.**

10. Compter la radioactivité dans les tubes pendant 1 minute en utilisant un compteur gamma. Nous suggérons de vérifier le bruit de fond de l'instrument avant de réaliser l'analyse. Afin d'éviter des variations de la sensibilité du système, le bruit de fond devrait être réduit à un minimum ou être ajusté correctement.

SCHEMA DU DOSAGE AVEC LA PROCÉDURE SENSIBLE

Tubes	Activité Totale	Calibrateurs	Contrôle	Échantillons	Récupération
Réactif					
Calibrateurs	-	100 µl	-	-	-
Contrôle	-	-	100 µl	-	-
Échantillons	-	-	-	100 µl	-
Échantillons enrichis*	-	-	-	-	100 µl
Diluant	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
- Mélange au vortex et incubation en mélangeant pendant 2 heures à température ambiante (18-25°C) (150-450 tpm)					
- Aspiration - lavage 1 x 2 ml - Aspiration					
Traceur	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Incubation: 18 – 24 h à température ambiante (18-25°C)					
- Aspiration - lavage 2 x 2 ml - Aspiration					
- Comptage					

B. PROCÉDURE D'ANALYSE NON-SENSIBLE

1. Préparer des tubes pour recevoir les calibrateurs, les sérums/plasmas à analyser, les récupérations et le contrôle en double. Utiliser des tubes en polystyrène non sensibilisés pour la mesure de l'activité totale.

2. Pipeter **50 µl** des calibrateurs, échantillons, échantillons enrichis et contrôle dans les tubes coatés correspondants. Pipeter directement dans le fond des tubes.

Ne pas utiliser le calibrateur 1.

3. Ajouter **200 µl** de diluant dans tous ces tubes excepté les tubes pour la mesure de l'activité totale.

4. Mélanger doucement les tubes au vortex et incubé pendant 2 heures sur un agitateur orbital réglé à 150-450 tpm.

5. À la fin de l'incubation, aspirer complètement le contenu des tubes. Laver une fois les tubes avec **2 ml** de solution de lavage. **Aspirer complètement et retirer toute humidité résiduelle.**

6. Ajouter **250 µl** de traceur radioactif (coloré en rouge) à tous les tubes.

7. Incuber les tubes pendant **18 à 24 heures** à température ambiante (18-25°C).

8. Aspirer soigneusement le mélange incubé de tous les tubes excepté ceux pour la mesure de l'activité totale.

9. Laver tous les tubes deux fois avec **2 ml** de solution de lavage excepté les tubes de mesure de l'activité totale. **Aspirer complètement le contenu des tubes et retirer toute humidité résiduelle.**

10. Compter la radioactivité dans les tubes pendant 1 minute en utilisant un compteur gamma. Nous suggérons de vérifier le bruit de fond de l'instrument avant de réaliser l'analyse. Afin d'éviter des variations de la sensibilité du système, le bruit de fond devrait être réduit à un minimum ou être ajusté correctement.

SCHEMA DU DOSAGE AVEC LA PROCEDURE NON-SENSIBLE

Tubes Réactif	Activité Totale	Calibrateurs	Contrôle	Échantillons	Récupération
Calibrateurs	-	50 µl	-	-	-
Contrôle	-	-	50 µl	-	-
Échantillons	-	-	-	50 µl	-
Échantillons enrichis*	-	-	-	-	50 µl
Diluant	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Mélange au vortex et incubation pendant 2 heures à température ambiante (18-25°C) en mélangeant (150-450 tpm). - Aspiration - lavage 1 x 2 ml - aspiration					
Traceur	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Incubation: 18 – 24 h à température ambiante (18-25°C) - Aspiration - lavage 2 x 2 ml - aspiration - Comptage					

C. TEST DE RÉCUPÉRATION

1. Préparation des échantillons de récupération (échantillons enrichis*).

Diluer de moitié les échantillons avec le contenu du flacon de récupération, par exemple **125 µl** d'échantillon (**75 µl** pour la méthode non-sensible) + **125 µl** de solution de récupération (**75 µl** pour la méthode non-sensible). La concentration de thyroglobuline dans la solution de récupération est variable d'un lot à l'autre. Veuillez vous référer à l'étiquette du flacon pour la concentration exacte. Les échantillons préparés de cette manière sont appelés les "échantillons enrichis".

2. Analyse des échantillons non enrichis et des échantillons enrichis.

Dans la même série, mesurer la thyroglobuline **à la fois** dans les échantillons non enrichis et dans les échantillons enrichis

3. Calcul.

Le pourcentage de récupération est calculé de la manière suivante :

$$\text{Récupération (\%)} = \frac{\text{Valeur de l'échantillon enrichi}}{(\text{Valeur de l'échantillon non enrichi} + \text{concentration de la solution de récupération})/2} \times 100$$

S'il n'y a pas d'interférence, la récupération sera proche de 100%. Si la récupération est inférieure à 80%, l'on peut supposer une interférence due à des Ac anti-Tg. Cette dernière doit être vérifiée en mesurant les Ac anti-Tg dans l'échantillon. Si la récupération est supérieure à 120%, l'interférence observée n'est pas due à des Ac anti-Tg.

8. CALCUL DES RESULTATS

Tracer la courbe de calibration sur un papier semi-logarithmique en reportant le B/T (%) obtenu pour chacun des calibrateurs (axe des Y) en fonction de la concentration relative (axe des X). Calculer le B/T (%) pour chacun des échantillons et lire la concentration par interpolation sur la courbe de calibration.

EXEMPLE DE CALCUL

Les valeurs rapportées ci-dessous doivent être considérées comme un exemple et ne peuvent être utilisées à la place des données expérimentales.

EXEMPLE DE CALCUL

Les valeurs rapportées ci-dessous doivent être considérées comme un exemple et ne peuvent être utilisées à la place des données expérimentales.

Description	Moyenne cpm	B/T (%)	hTg conc. (ng/ml)
Activité Totale (T)	247160	-	-
CAL 0	110	0,00	0
CAL 1	297	0,08	0,75
CAL 2	525	0,17	1,5
CAL 3	1351	0,50	5
CAL 4	4022	1,58	15
CAL 5	12023	4,82	50
CAL 6	45802	18,49	200
CAL 7	110743	44,76	600
CONTROLE	6890	3,1	27,0

CONTROLE DE QUALITÉ INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le contrôle 1 et/ou le contrôle 2 ne sont pas dans les fourchettes spécifiées, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins d'avoir trouvé une explication satisfaisante à la divergence.
- S'il le souhaite, le laboratoire peut faire ses propres pools d'échantillons de contrôle qui doivent être conservés en aliquotes congelées.
- Les critères d'acceptation de la différence entre les résultats des échantillons analysés en double doivent reposer sur les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

9. VALEURS DE RÉFÉRENCE

Il est recommandé que chaque laboratoire détermine ces propres intervalles de référence. Les valeurs rapportées ci-dessous le sont seulement à titre indicatif.

Les valeurs normales de la thyroglobuline ont été déterminées sur 99 échantillons. Les taux de thyroglobuline trouvés étaient **inférieurs à 50 ng/ml**.

10. PERFORMANCE DU DOSAGE

SPECIFICITE

Les échantillons ont été traités dans des dosages qui comprenaient une à une dilution avec la Thyroglobulin Recovery. Les pourcentages de récupération ont été calculés. Cette évaluation a été faite avec 100 échantillons ne contenant pas d'auto-anticorps anti-thyroglobuline (TgAb négatif) et 100 échantillons contenant différents niveaux d'auto-anticorps anti-thyroglobuline (TgAb positif) allant de 50 à plus de 5000 UI / ml.

Les pourcentages moyens de récupération de «TgAb négatif» et «TgAb positif» sont respectivement de 91 et 85%. Par conséquent, aucune réaction croisée n'est observée avec le TgAb présent dans le sérum humain.

Cependant, un test de récupération est recommandé pour chaque échantillon étudié afin de valider les résultats car les TgAb varient des patients en termes de qualité et de quantité (cf. section 7.C).

SENSIBILITÉ

Sensibilité analytique

La LoB (limite du blanc) a été calculée en mesurant le blanc plusieurs fois et a été calculée comme la moyenne + 2 écarts-types de la distribution des valeurs de test; la LoB a été calculée comme étant de 0,18 ng / ml.

La LoD (limite de détection) a été calculée comme la LoB + 1,645 écarts-types d'un échantillon à faible concentration testé dans 11 essais différents. La LoD a été calculée comme étant de 0,42 ng / ml.

La LoQ (limite de quantification) a été calculée en testant 5 échantillons de faible valeur, 11 fois. La LoQ a été calculée comme étant de 0,69 ng / ml.

PRÉCISION

La précision a été évaluée sur la variabilité intra et inter-analyse à différentes concentrations de l'analyse.

Intra-analyse

Sérum	Moyenne (ng/ml)	±	D.S.	C.V. (%)	N
1	9,4	±	0,2	2,4	20
2	51,9	±	0,8	1,6	20
3	112,8	±	1,7	1,5	20

Inter-analyse

Sérum	Moyenne (ng/ml)	±	D.S.	C.V. (%)	N
1	9,2	±	0,2	2,2	9
2	51,6	±	1,7	3,3	9
3	215,5	±	4,8	2,2	9

EXACTITUDE

L'exactitude de la méthode a été vérifiée par les tests de récupération analytique et de parallélisme.

Récupération analytique

Échantillon	Attendu (ng/ml)	Mesuré (ng/ml)	Récupération (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
	327,8	327,6	99,9
2	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
	127	113,8	89,6
	327	312,5	95,6

Test de parallélisme.

Les sérums de concentration élevée en analyte ont été testés à différentes dilutions avec le Calibreur Zéro.

Dilution	Prévu (ng/ml)	Mesuré (ng/ml)	Récupération (%)
S1 non dilué	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
S2 non dilué	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

EFFET CROCHET

Dans les deux procédures, les échantillons enrichis avec de la thyroglobuline humaine purifiée jusqu'à 100.000 ng/ml ont donné des valeurs supérieures au dernier calibreur.

NEDERLANDS

IMMUNORADIOMETRISCHE ASSAY VOOR DE KWANTITATIEVE BEPALING VAN HUMAAN THYREOGLOBULINE IN HUMAAN SERUM EN PLASMA GEVOELIGE METHODE.

R-CM-100 – 96 TESTS

UITSLUITEND VOOR DIAGNOSTISCH GEBRUIK IN VITRO

1. KLINISCHE TOEPASSINGEN

Thyreoglobuline (hTg) is het belangrijkste onderdeel van het colloïd in de follikels van de schildklier. hTg is een glycoproteïne met een moleculair gewicht van 660.000. Aangezien hTg specifiek is voor de schildkliercellen is de bepaling van de concentratie ervan in het bloed van groot belang bij de diagnose van schildklierandoeningen.

In gebieden met endemische krop vertoonden de meeste personen met die aandoening een aanzienlijk hogere thyreoglobulineconcentratie dan die bij de normale controles. Er wordt echter ook een verhoogde thyreoglobulineconcentratie waargenomen bij patiënten met sporadische krop in gebieden waar de opname van jood aanzienlijk hoger is. In beide gevallen hangen deze verhoogde waarden samen met de ontwikkeling van krop zelf.

Tijdens de aanvangsfase van subacute thyreoïditis is de thyreoglobulineconcentratie duidelijk verhoogd. Een aanhoudend hoge hTg-concentratie op het einde van een behandeling met een antithyreoticum voorspelt meestal een recidief van hyperthyreoïdie als de behandeling wordt gestaakt. Daarom maakt de hTg-bepaling deel uit van de opvolging van de ziekte van Graves en de behandeling ervan.

2. PRINCIPE VAN DE ASSAY

Deze testkit is een immunoradiometrische assay (IRMA), gebaseerd op met monoklonale antilichamen gecoate buisjes, die gericht zijn tegen specifieke epitopen van de molecule van Tg.

De binnenwand van de buisjes zijn met drie vangantilichamen gecoat. Tg van de kalibratoren of van de monsters wordt door deze antilichamen gevangen. Toevoeging van het vierde met ¹²⁵Jood gelabelde antilichaam vervolledigt het systeem, waardoor het mogelijk is een brug te vormen tussen de gecoate antilichamen en het gelabelde antilichaam.


Na het wassen is de resterende radioactiviteit, gebonden aan de buisjes, recht evenredig met de Tg-concentratie in de kalibratoren of de monsters.

Door de zorgvuldige keuze van de drie monoklonale antilichamen is een hoge specificiteit en een hoge gevoeligheid mogelijk, terwijl een bovenmatige specificiteit – die men soms de immunometrische assays met slechts twee monoklonalen verwijt – wordt vermeden.

Deze testkit bestaat ook in een verSie die bestemd is voor farmaceutische laboratoria binnen R&D. Deze verSie (Q3) is uitsluitend op speciaal verzoek verkrijgbaar.

3. GELEVERDE MATERIALEN

- De reagentia zijn voldoende voor 96 tests.
- Bewaar de kit en de reagentia bij 2 – 8 °C.
- De houdbaarheidsdatum van elk reagens staat op het etiket vermeld.

Reagens	Kit voor 96 testen	Reconstitutie		
 Buisjes gecoat met drie anti-humane thyreoglobuline muis-monoklonale antilichamen.	2 x 48	Klaar voor gebruik		
<table border="1" data-bbox="76 1966 252 2018"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> TRACER : anti-humaan thyreoglobuline muis-monoklonaal antilichaam. Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%),	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 27.5 ml ±480 kBq	Klaar voor gebruik
Ab	¹²⁵ I			

[CAL]0 NulKalibrator Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%).	1 flacon 3 ml	Klaar voor gebruik			
[CAL]N Kalibrator – N = 7 humaan thyreoglobuline in een fosfaatbuffer. Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%).	7 flacons 1 ml	Klaar voor gebruik			
[CONTROL Controle humaan thyreoglobuline in een fosfaatbuffer met eiwitten en eiwitstabilisatoren. Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%).	1 flacon 1 ml	Klaar voor gebruik			
<table border="1" data-bbox="837 526 989 560"> <tr> <td>DIL</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Verdunningsvloeistof fosfaatbufferoplossing met BSA en NaN3 (< 0,1%) als bewaarmiddel.	DIL	BUF	1 flacon 25 ml	Klaar voor gebruik	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="837 638 1085 672"> <tr> <td>RECOVERY</td> <td>SOLN</td> </tr> </table> Recovery Solution humaan thyreoglobuline in een fosfaatbuffer met eiwitten en eiwitstabilisatoren. De concentratie thyroglobuline varieert van lot tot lot. Raadpleeg het etiket van de fles voor de exacte concentratie. Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%).	RECOVERY	SOLN	1 flacon 4.2 ml	Klaar voor gebruik	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="837 817 1117 851"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Wasoplossing (50 x geconcentreerd) TRIS-HCl-buffer met detergens. Bewaarmiddel: NaN3 < 0,1%.	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 20 ml	1.000 ml met gedestilleerd water
WASH	SOLN	CONC			

1. Controle en Kalibrators : raadpleeg de waarde op het etiket van de flacon voor de exacte waarde.

De kalibrator 1 mag enkel worden gebruikt bij de gevoelige methode.

De kalibratoren worden gekalibreerd tegenover het Europees referentiepreparaat MRC457 van hTg.

2. Gecoate buisjes: Niet-gebruikte buisjes moeten bij 2 – 8 °C en beschermd tegen vocht worden bewaard.

3. Wasoplossing (50 x geconcentreerd): Vul aan tot 1.000 ml met gedestilleerd water. De verdunde wasoplossing blijft gedurende 2 maanden oudbaar bij 2 – 8 °C.

4. VEREISTE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

- Plastic proefbuisjes.
- Rek voor proefbuisjes.
- Regelbare, automatische micropipetten met wegwerptippen.
- Vortexmenger.
- Maatcilinder.
- Aspiratiepomp of geautomatiseerd wasapparaat.
- Gamma scintillatieteller.
- Gedestilleerd water.
- Rondschildapparaat, instelbaar op 150-450 toeren per minuut.
-

5. WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAAT-REGELEN VOOR GEBRUIKERS

Voor in vitro diagnostisch gebruik.

Enkel ervaren laboratoriumpersoneel mag deze test gebruiken en de handelingen moeten in overeenstemming zijn met GLP.

Radioactief materiaal – Niet voor inwendig of uitwendig gebruik bij mensen of dieren.

Om reproduceerbare resultaten te verkrijgen, moeten de volgende regels in acht worden genomen:

- Reagentia van verschillende charges mogen niet worden gemengd.
- Gebruik de reagentia niet langer dan de aangegeven vervaldatum.
- Gebruik glaswerk, dat grondig werd gereinigd is.
- Gebruik gedestilleerd water, dat wordt bewaard in een propere verpakking.
- Vermijd besmettingen bij monsters onderling. Gebruik daarom wegwerptips voor elk monster en reagens.

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik.

Deze kit bevat 125I (halfwaardetijd: 60 dagen), dat ioniserende X- (28 keV) en γ -stralen (35.5 keV) uitzendt.

Dit radioactieve product mag enkel overhandigd worden aan en gebruikt worden door bevoegd personeel; ontvangst, opslag, gebruik en overdracht van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetgeving van het land van de eindgebruiker. In geen geval mag het product toegediend worden aan mensen of dieren.

Alle handelingen met radioactief materiaal moeten plaatsvinden in een daartoe bestemde ruimte, waar uitsluitend bevoegd personeel toegelaten wordt. Een logboek met ontvangst en opslag van radioactieve materialen moet worden bijgehouden in het laboratorium. Laboratoriumapparatuur en glaswerk, dat eventueel gecontamineerd werd met radioactieve bestanddelen, moeten worden gesegregeerd om kruisbesmetting van verschillende radioisotopen te vermijden.

Als radioactief materiaal gemorst werd, dan moet dat onmiddellijk gereinigd worden in overeenstemming met de procedure voor stralingsveiligheid. Het radioactieve afval moet worden weggegooid in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften en richtlijnen van de autoriteiten waaronder het laboratorium valt. Naleving van de basisregels van stralingsveiligheid zorgt voor een juiste bescherming. De componenten, afkomstig van menselijk bloed, in deze kit werden getest door in Europa goedgekeurde en/of door de Amerikaanse FDA goedgekeurde methoden op aanwezigheid van HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 en 2 en gaven een negatief resultaat. Geen enkele bekende methode kan echter volledige garantie bieden dat derivaten van menselijk bloed geen hepatitis, aids of andere infecties overdragen. Daarom moet men reagentia, serum- of plasmamonsters behandelen in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsprocedures.

Alle producten en derivaten van dierlijke oorsprong zijn afkomstig van gezonde dieren. Boviene componenten komen uit landen waar BSE niet gerapporteerd werd. Toch moeten componenten die bestanddelen van dierlijke oorsprong bevatten, behandeld worden als potentieel besmettelijk. Vermijd dat de reagentia (natriumazide als conserveermiddel) in contact komen met de huid. Azide in deze kit kan reageren met lood en koper in de afvoerleidingen en op die manier zeer explosieve metaalaziden vormen. Tijdens de wasfase moeten de afvoerleidingen ruimschoots met water nagespoeld worden om ophoping van azide te vermijden.

Niet roken, drinken, eten of cosmetica aanbrengen in de werkruimte. Niet met de mond pipetteren. Draag beschermende kleding en gebruik wegwerphandschoenen.

Zie veiligheidsinformatieblad (MSDS) voor meer informatie.

6. MONSTERNAME

Lipemische sera kunnen afwijkende resultaten geven. Monsters kunnen maximaal 24 uur bij 2 – 8 °C worden bewaard. Indien de monsters gedurende langere tijd worden bewaard, dienen zij in aliquots te worden verdeeld en bij –20 °C worden ingevroren. Vermijd herhaaldelijk invriezen en ontdooien. Meng de monsters na het ontdooien en vóór gebruik door ze om te keren.

Alhoewel interferentie van anti-thyreoglobuline autoantilichamen (TgAb) in grote mate tot een minimum werden herleid door een zorgvuldige keuze van de in de assay betrokken monoklonale antilichamen verdient het toch aanbeveling om de geldigheid van het thyreoglobulineresultaat te controleren door een recovery-test, zoals hieronder beschreven, uit te voeren.

Serum of EDTA-plasma geeft vergelijkbare resultaten.

$$Y (\text{plasma}) = 0,99x (\text{serum}) + 0,44 \quad r = 0,99 \quad n = 20$$

7. ASSAYPROCEDURE

- Laat alle reagentia en monsters – vóór gebruik – op kamertemperatuur (18-25°C) komen.
- Meng de monsters – vóór gebruik – door ze om te keren.
- Voor alle kalibratoren wordt een tweede meting aanbevolen.

A. GEVOELIGE ASSAYPROCEDURE

1. Bereid buisjes voor kalibratoren, testsera/-plasmata, recoveries en controles in tweevoud. Gebruik niet-gevoelige buisjes van polystyreen om de totale activiteit te bepalen.
2. Pipetteer **100 μ l** van de kalibratoren, de monsters, de gespikete monsters en de controles in de betreffende gecoatete buisjes. Pipetteer rechtstreeks op de bodem van de buisjes.
3. Voeg aan al deze buisjes (met uitzondering van de buisjes voor de totale activiteit) **100 μ l** verdunningsvloeistof toe.
4. Meng de buisjes voorzichtig op een vortex en incubeer gedurende 2 uur op een rondschildapparaat, ingesteld op 150-450 toeren per minuut.

5. Zuig op het einde van de incubatie de inhoud van de buisjes volledig op. Was de buisjes één keer met **2 ml** wasoplossing. **Zuig volledig op en verwijder eventuele resten van de wasoplossing.**

6. Voeg aan alle buisjes **250 μ l** radioactieve tracer (rood gekleurd) toe.
7. Incubeer de buisjes gedurende 18 – 24 uur bij kamertemperatuur (18-25°C).

8. Zuig zorgvuldig het incubatiemengsel uit alle buisjes (met uitzondering van de buisjes van de totale activiteit) op.

9. Was de buisjes (met uitzondering van de buisjes van de totale activiteit) twee keer met **2 ml** wasoplossing. **Zuig de inhoud van de buisjes volledig op en verwijder eventuele resten van de wasoplossing.**

10. Tel de aan de buisjes gebonden radioactiviteit gedurende 1 minuut in een gammateller. Wij bevelen aan om de achtergrond van het apparaat te controleren alvorens te tellen. Om variaties in de systeemgevoeligheid te voorkomen, moet de achtergrond tot een minimum worden beperkt of op de juiste manier worden aangepast.

SCHEMA VAN DE ASSAY MET GEVOELIGE PROCEDURE

Buisjes	Totale activiteit	Kalibratoren	Controle	Monsters	Recovery
Reagens					
Kalibratoren	-	100 μ l	-	-	-
Controle	-	-	100 μ l	-	-
Monsters	-	-	-	100 μ l	-
Gespikete monsters*	-	-	-	-	100 μ l
Verdunningsvloeistof	-	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
- Meng op een vortex en incubeer gedurende 2 uur bij kamertemperatuur (18-25°C) op een rondschildapparaat (150-450 toeren per minuut). - Zuig op - was 1 x met 2 ml – zuig op					
Tracer	250 μ l	250 μ l	250 μ l	250 μ l	250 μ l
- Incubeer: gedurende 18 – 24 uur bij kamertemperatuur (18-25°C). - Zuig op - was: 2 x met 2 ml – zuig op - Tel.					

B. NIET-GEVOELIGE ASSAYPROCEDURE

1. Bereid buisjes voor kalibratoren, testsera/-plasmata, recoveries en controles in tweevoud. Gebruik niet-gevoelige buisjes van polystyreen om de totale activiteit te bepalen.

2. Pipetteer **50 μ l** van de kalibratoren, de monsters, de gespikete monsters en de controles in de betreffende gecoatete buisjes. Pipetteer rechtstreeks op de bodem van de buisjes.

Gebruik geen kalibrator 1.

3. Voeg aan al deze buisjes (met uitzondering van de buisjes voor de totale activiteit) **200 μ l** verdunningsvloeistof toe.

4. Meng de buisjes voorzichtig op een vortex en incubeer gedurende 2 uur op een rondschildapparaat, ingesteld op 150-450 toeren per minuut.

5. Zuig op het einde van de incubatie de inhoud van de buisjes volledig op. Was de buisjes één keer met **2 ml** wasoplossing. **Zuig volledig op en verwijder eventuele resten van de wasoplossing.**

6. Voeg aan alle buisjes **250 μ l** radioactieve tracer (rood gekleurd) toe.
7. Incubeer de buisjes gedurende 18 – 24 uur bij kamertemperatuur (18-25°C).

8. Zuig zorgvuldig het incubatiemengsel uit alle buisjes (met uitzondering van de buisjes van de totale activiteit) op.

9. Was de buisjes (met uitzondering van de buisjes van de totale activiteit) twee keer met **2 ml** wasoplossing. **Zuig de inhoud van de buisjes volledig op en verwijder eventuele resten van de wasoplossing.**

10. Tel de aan de buisjes gebonden radioactiviteit gedurende 1 minuut in een gammateller. Wij bevelen aan om de achtergrond van het apparaat te controleren alvorens te tellen. Om variaties in de systeemgevoeligheid te voorkomen, moet de achtergrond tot een minimum worden beperkt of op de juiste manier worden aangepast.

SCHEMA VAN DE ASSAY MET NIET-GEVOELIGE PROCEDURE

Buisjes	Totale activiteit	Kalibratoren	Controle	Monsters	Recovery
Reagens					
Kalibratoren	-	50 µl	-	-	-
Controle	-	-	50 µl	-	-
Monsters	-	-	-	50 µl	-
Gespikete monsters*	-	-	-	-	50 µl
Verdunningsvloeistof	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Meng op een vortex en incubeer gedurende 2 uur bij kamertemperatuur (18-25°C) op een rondschildapparaat (150-450 toeren per minuut). - Zuig op - was 1 x met 2 ml – zuig op					
Tracer	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Incubeer: gedurende 18 – 24 uur bij kamertemperatuur (18-25°C). - Zuig op - was: 2 x met 2 ml – zuig op - Tel.					

C. RECOVERY-TEST

1. Bereiding van de recovery-monsters (gespikete monsters*).
 Verdun de helft van de monsters met de inhoud van de recovery-flacon, b.v. **125 µl** monster (**75 µl** bij de niet-gevoelige methode) + **125 µl** recovery-oplossing (**75 µl** bij de niet-gevoelige methode). De thyroglobulineconcentratie in de hersteloplossing varieert van partij tot partij. Raadpleeg het etiket van de fles voor de exacte concentratie. De op deze manier bereide monsters zijn de "gespikete monsters".

2. Assay van de niet en wel gespikete monsters.
 Meet in dezelfde reeks thyroglobuline in **zowel** de niet-gespikete **als** de wel gespikete monsters.

3. Berekening.
 Het recovery-percentage wordt als volgt berekend:

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Waarde van het gespikete monster}}{\text{(Waarde van het niet-gespikete monster + concentratie van de hersteloplossing)/2}} \times 100$$

Indien er geen interferentie is, bedraagt de recovery bijna 100%. Indien de recovery minder dan 80% bedraagt, kan een interferentie van TgAb worden verondersteld en dient dit te worden gecontroleerd door TgAb in het monster te meten. Indien de recovery meer dan 120% bedraagt, is de waargenomen interferentie niet aan TgAb te wijten.

8. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

Teken de kalibratiecurve op lineair-logaritmisch millimeterpapier door de voor elke kalibrator verkregen B/T (%) (y-as) uit te zetten tegen de relatieve concentratie (x-as). Bereken voor elk monster de B/T (%) en lees door interpolatie de concentratie af op de kalibratiecurve.

VOORBEELD VOOR BEREKENING

De hieronder vermelde waarden moeten als voorbeeld worden beschouwd en mogen niet als experimentele gegevens worden gebruikt.

Beschrijving	Gemiddelde cpm	B/T (%)	hTg-conc. (ng/ml)
Totale activiteit (T)	247160	-	-
CAL 0	110	0,00	0
CAL 1	297	0,08	0,75
CAL 2	525	0,17	1,5
CAL 3	1351	0,50	5
CAL 4	4022	1,58	15
CAL 5	12023	4,82	50
CAL 6	45802	18,49	200
CAL 7	110743	44,76	600
CONTROL	6890	3,1	27,0

INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Indien de resultaten, die verkregen werden voor controle 1 en/of controle 2, niet binnen het bereik vallen zoals vermeld, dan mogen de resultaten niet gebruikt worden tenzij een bevredigende uitleg gegeven wordt voor de discrepantie.
- Indien gewenst, kan elk laboratorium zijn eigen pools voor controlemonsters maken, die dan in aliquots bewaard moeten worden in de diepvriezer.
- Aanvaardingscriteria voor het verschil tussen de resultaten in duplo van monsters moeten steunen op gangbare laboratoriumpraktijken.

9. REFERENTIEWAARDEN

Het verdient aanbeveling dat elk laboratorium zijn eigen referentie-interval bepaalt. De hieronder vermelde waarden dienen uitsluitend als richtlijn.

De normale waarden voor Thyroglobuline zijn bepaald op 99 stalen, alle stalen hadden een waarde **lager dan 50 ng/ml**.

10. EIGENSCHAPPEN VAN DE ASSAY

SPECIFICITEIT

Monsters werden verwerkt in assays die een-op-een verdunning omvatten met de Thyroglobulin Recovery. De percentages herstel zijn berekend. Deze evaluatie werd uitgevoerd met 100 monsters die geen anti-thyroglobuline auto-antilichamen (TgAb-negatief) bevatten en 100 monsters met verschillende niveaus van anti-thyroglobuline auto-antilichamen (TgAb-positief) variërend van 50 tot meer dan 5.000 IE / ml.

De gemiddelde percentages van herstel van "TgAb-negatief" en "TgAb-positief" zijn respectievelijk 91 en 85%. Daarom wordt geen kruisreactie waargenomen met TgAb aanwezig in menselijk serum.

Er wordt echter een hersteltest aanbevolen voor elk bestudeerd monster om de resultaten te valideren, aangezien TgAb van patiënt afwijkt in termen van kwaliteit en kwantiteit (cfr. Sectie 7.C).

GEVOELIGHEID

Analytische gevoeligheid

De LoB (limiet van blanco) werd berekend door de blanco meerdere keren te meten en werd berekend als de gemiddelde + 2 standaarddeviaties van de verdeling van de testwaarden; de LoB werd berekend op 0,18 ng / ml.

De LoD (detectielimiet) werd berekend als de LoB + 1.645 standaarddeviaties van een monster met lage concentratie dat in 11 verschillende runs is getest. De LoD werd berekend op 0,42 ng / ml. De LoQ (kwantificatielimiet) werd berekend door 5 monsters met lage waarden 11 keer te testen. De LoQ werd berekend op 0,69 ng / ml.

PRECISIE

De precisie werd beoordeeld aan de hand van de variabiliteit binnen een test en tussen tests bij verschillende analytconcentraties.

Binnen een test

Serum	Gemiddelde (ng/ml)	±	SD	VC (%)	N
1	9,4	±	0,2	2,4	20
2	51,9	±	0,8	1,6	20
3	112,8	±	1,7	1,5	20

Tussen tests

Serum	Gemiddelde (ng/ml)	±	SD	VC (%)	N
1	9,2	±	0,2	2,2	9
2	51,6	±	1,7	3,3	9
3	215,5	±	4,8	2,2	9

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van de methode werd beoordeeld door een analytische recovery- en een parallelismetest.

Analytisch recovery

Monster	Verwacht (ng/ml)	Gemeten (ng/ml)	Recovery (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
	327,8	327,6	99,9
2	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
	127	113,8	89,6
	327	312,5	95,6

Parallellismetest

Sera met een hoge analytconcentratie werden bij verschillende verdunningen met de nulcalibrator getest.

Verdunning	Verwacht (ng/ml)	Gemeten (ng/ml)	Recovery (%)
M1 onverdund	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
M2 onverdund	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

“HOOK”EFFECT

Monsters die met maximaal 100.000 ng/ml gezuiverd humaan thyreoglobuline werden gespiket, leverden bij beide procedures waarden op die hoger lagen dan de laatste kalibrator.

DEUTSCH

IMMUNORADIOMETRISCHER TEST ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES HUMANEN THYREOGLOBULINS IN HUMANEM SERUM UND PLASMA SENSITIVE METHODE R-CM-100 - 96 Bestimmungen

DIESER KIT IST NUR FÜR DIE IN - VITRO - DIAGNOSTIK BESTIMMT

1. KLINISCHE ANWENDUNGEN

Thyreoglobulin (hTg) ist die Hauptkomponente des Kolloids der thyreoiden Follikel. hTg ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 660000 MW. hTg ist spezifisch für die Zellen der Schilddrüse. Die Bestimmung seiner Konzentration ist infolge dessen von großer Signifikanz für die Diagnose von Schilddrüsenerkrankungen.

In Gegenden mit endemischer Verbreitung des Struma, hat die Mehrheit der erkrankten Personen einen wesentlich höheren Thyreoglobulin-Level als bei Normalkontrollen. Indessen wurden erhöhte Thyreoglobulin-Level auch bei Patienten mit vereinzelt auftretendem Struma beobachtet; dies in Gegenden, in denen die Jodaufnahme wesentlich höher ist. In beiden Situationen korrelierten diese erhöhten Werte mit der Entwicklung des Struma an sich.

Während des Anfangstadiums einer subakuten Thyreoiditis ist das Thyreoglobulin auffällig erhöht. Andauernd hohe hTg-Level am Ende einer Behandlung mit Schilddrüsenhemmern werden als Hinweis auf einen Rückfall für eine Überfunktion der Schilddrüse (Hyperthyreose) angesehen und führen zum Therapieabbruch. Die hTg Bestimmung ist daher Teil der Verlaufsbeobachtung und Behandlung der Graves-Krankheit.

2. TESTPRINZIP

Dieser Test Kit ist ein immunoradiometrischer Test (IRMA). Er basiert auf mit monoklonalen Antikörpern beschichteten Röhrchen, die gezielt gegen die eindeutigen Epitope der Tg- Moleküle gerichtet sind. Drei Fang-Antikörper sind an der Innenseite des Röhrchens gebunden. Das Tg des Kalibrators oder das der Proben werden an diese Antikörper gebunden.


Die Addition des vierten Antikörpers, der mit ¹²⁵I markiert ist, komplettiert das System. Es ermöglicht die Herstellung einer Verbindung zwischen den beschichteten und den markierten Antikörpern.

Nach dem Waschen steht die verbleibende, an den Röhrchen gebundene Radioaktivität, in direktem Bezug zur Konzentration des Tg in den Kalibratoren oder der Proben.

Die sorgfältige Auswahl der vier monoklonalen Antikörper erlaubt eine hohe Spezifität und vermeidet ein Übermaß an Spezifität, was manchmal den immunometrischen Versuchen mit nur zwei monoklonalen Antikörpern angelastet wird.

3. MITGELIEFERTES MATERIAL

- Die Reagenzien sind ausreichend für 96 Bestimmungen.
- Lagern Sie den Kit und die Reagenzien bei 2 – 8° C.
- Das Verfallsdatum jedes Reagenz ist auf dem Etikett angegeben.

Reagenz	96 Tests Kit	Rekonstitution		
 beschichtete Röhrchen mit anti-humanem monoklonalen Thyreoglobulin Antikörpern von der Maus.	2 x 48	Gebrauchsfertig		
<table border="1" data-bbox="76 1892 252 1944"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> TRACER : anti-humanen monoklonalen Thyreoglobulin -Antikörper von der Maus. Konservierungsmittel: NaN3 (< 0,1 %),	Ab	¹²⁵ I	1 Fläschchen 27,5 ml ±480 kBq	Gebrauchsfertig
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0 Nullkalibrator Konservierungsmittel : NaN3 (<0.1%)	1 Fläschchen 3 ml	Gebrauchsfertig		

[CAL]N Kalibratoren – N = 7 humanem Thyreoglobulin in Phosphatpuffer. Konservierungsmittel : NaN3 (<0.1%)	7 Fläschchen 1 ml	Gebrauchsfertig			
[CONTROL] Kontrolle humanem Thyreoglobulin in Phosphatpuffer, der Proteine und Protein stabilisatoren enthält. Konservierungsmittel : NaN3 (<0.1%).	1 Fläschchen 1 ml	Gebrauchsfertig			
<table border="1" data-bbox="837 398 991 427"> <tr> <td>DIL</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Verdünnungspuffer Phosphatpufferlösung mit BSA und Konservierungsmittel: NaN3 (<0,1%).	DIL	BUF	1 Fläschchen 25 ml	Gebrauchsfertig	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="837 488 1077 517"> <tr> <td>RECOVERY</td> <td>SOLN</td> </tr> </table> Wiederfindung Thyreoglobulin in Phosphatpuffer, der Proteine und Protein stabilisatoren enthält. Die Konzentration von Thyreoglobulin ist von Charge zu Charge variabel. Die genaue Konzentration entnehmen Sie bitte dem Etikett der Flasche. Konservierungsmittel: NaN3 < 0,1%	RECOVERY	SOLN	1 Fläschchen 4,2 ml	Gebrauchsfertig	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="837 689 1114 719"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Waschlösung (50 x konzentriert) TRIS HCl Puffer mit Detergenten. Konservierungsmittel: NaN3 < 0,1 %.	WASH	SOLN	CONC	1 Fläschchen 20 ml	destilliertem Wasser auf 1000 ml
WASH	SOLN	CONC			

- Kontrolle und Kalibratoren:** Die Sollwerte entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett.
Der Kalibrator 1 sollte nur bei der sensitiven Methode verwendet werden.
Die Kalibratoren wurden gegen den hTg europäische Bezugsvorbereitung MRC457 kalibriert.
- Beschichtete Röhrchen:** Unbenutzte Röhrchen müssen bei 2-8°C, geschützt vor Feuchtigkeit, aufbewahrt werden.
- Waschlösung (50 x konzentriert):** Füllen Sie mit destilliertem Wasser auf 1000 ml auf. Die verdünnte Lösung ist bei 2 – 8° C zwei Monate lang stabil.

4. ERFORDERLICHES, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTES, MATERIAL

- Teströhrchen aus Plastik
- Racks für die Teströhrchen
- einstellbare, automatische Mikropipetten mit Einmalspitzen
- Vortexmixer
- Graduierter Zylinder
- Absaugpumpe oder automatische Waschanlage
- Szintillations-Gamma-Counter
- destilliertes Wasser
- Orbitalschüttler, einstellbar auf 150-450 rpm

5. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN FÜR ANWENDER

Nur bestimmt zum in vitro Gebrauch.

Dieser Test sollte nur von erfahrenem Laborpersonal, in Übereinstimmung mit den Richtlinien der GLP, benutzt werden.

Radioaktives Material - Nicht zur innerlichen oder äußerlichen Anwendung bei Menschen und Tieren bestimmt.

Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, müssen folgende Regeln eingehalten werden:

- Verwenden oder mischen Sie keine Testkomponenten unterschiedlicher Chargen.
- Verwenden Sie keine Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums.
- Verwenden Sie nur völlig saubere Glasutensilien.
- Benutzen Sie destilliertes Wasser, dass in geeigneten, sauberen Behältern aufbewahrt werden muss.
- pVermeiden Sie jede Kontamination der einzelnen Reagenzien; so müssen für jede Probe und jedes Reagenz Einmalpipettenspitzen verwendet werden.

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.

Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern.

Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz. Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in USA erprobten FDA-Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAg, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde. Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potentiell ansteckend behandelt werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflußrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschstufen den Abfluß gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern. Bitte rauchen, trinken, essen oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Tragen Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (MSDS).

6. SAMMLUNG VON EINZELPROBEN

Lipämische Seren können aberrante Resultate ergeben. Die Proben können bei 2-8°C bis zu 24 Stunden gelagert werden. Für eine längere Lagerdauer sollten die Proben aliquotiert und bei -20°C gelagert werden. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen und Einfrieren. Vor Gebrauch nach dem Einfrieren, mischen Sie die Proben durch Umdrehen.

Ogleich Interferenzen durch Anti-Thyreoglobulin Autoantikörper (TgAb) weitestgehend durch die sorgfältige Auswahl, der im Test verwendeten Antikörper reduziert wurden, ist es empfehlenswert die Validität des Thyreoglobulinresultats zu verifizieren, indem man den unten beschriebenen Wiederfindungstest durchführt.

Serum- oder EDTA-Plasma liefert ähnliche Ergebnisse.

$$Y (\text{Plasma}) = 0,99x (\text{Serum}) + 0,44 \quad r = 0,99 \quad n = 20$$

7. TESTVERLAUF

- Vor Gebrauch müssen alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur (18-25°C) gebracht werden.
- Vor Gebrauch müssen die Proben durch Schwenken gemischt werden.
- Für alle Kalibratoren wird eine doppelte Messung empfohlen.

A. SENSITIVER TESTVERLAUF

1. Bereiten Sie die, auf die Kalibratoren, Testseren/plasmen, Wiederfindungstests und Kontrolle abgestimmten Röhren, doppelt vor.
2. Pipettieren Sie **100 µl** der Kalibratoren, Proben, gespikte Proben und Kontrolle in die dazu gehörigen beschichteten Röhren. Pipettieren Sie direkt auf den Boden der Röhren.
3. Geben Sie **100 µl** des Verdünnungspuffers in alle Röhren, außer denen für die Totalaktivität.
4. Mischen Sie die Röhren vorsichtig mit dem Vortexmischer und inkubieren für 2 Stunden mit einem Orbitalschüttler bei 150-450 rpm.
5. Nach dem Inkubieren saugen Sie den Inhalt der Röhren vollständig ab. Waschen Sie die Röhren einmal mit 2ml

Waschlösung. **Saugen Sie den Inhalt der Röhren vollständig ab und beseitigen Sie jede verbliebene Feuchtigkeit.**

6. Geben Sie **250 µl** des radioaktiven Tracers (rot eingefärbt) in alle Röhren.
7. Inkubation der Röhren für 18-24 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C).
8. Saugen Sie sorgfältig die inkubierten Mischungen aus allen Röhren, außer denen der Totalaktivität.
9. Waschen Sie die Röhren 2x mit **2 ml** Waschlösung, außer denen der Totalaktivität. **Saugen Sie Inhalte der Röhren vollständig ab und beseitigen Sie jede verbliebene Feuchtigkeit.**
10. Zählen Sie die an die Röhren gebundene Radioaktivität 1 Minute lang in einem Gamma- Zähler. Wir schlagen vor, den Hintergrund des Instruments vor dem Zählen zu messen. Um Abweichungen in der Sensitivität des Systems zu vermeiden, muß der Hintergrund auf ein Minimum reduziert oder angepasst werden.

SCHEMA DES SENSITIVEN TESTVERLAUFS

Röhren	Total Aktivität	Kalibratoren	Kontrolle	Proben	Wiederfindung
REAGENZ					
Kalibratoren	-	100 µl	-	-	-
Kontrolle	-	-	100 µl	-	-
Proben	-	-	-	100 µl	-
Gespikte Proben*	-	-	-	-	100 µl
Verdünnungspuffer	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
- Mischen mit dem Vortexmischer, für 2 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren und schütteln (150-450rpm). - Absaugen - waschen: 1x2 ml - Absaugen					
Tracer	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Inkubieren: 18-24 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C) - Absaugen - waschen: 2x2 ml - Absaugen - Zählen					

B. NICHT – SENSITIVER TESTVERLAUF

1. Bereiten Sie die, auf die Kalibratoren, Testseren/plasmen, Wiederfindungstests und Kontrolle abgestimmten Röhren doppelt vor. Benutzen Sie keine lichtempfindlichen, polystyrenen Röhren für die Messung der Totalaktivität.
2. Pipettieren Sie **50 µl** der Kalibratoren, Proben, gespikte Proben und Kontrolle in die dazugehörigen beschichteten Röhren. Pipettieren Sie direkt auf den Boden der Röhren.
Verwenden Sie nicht den Kalibrator 1.
3. Geben Sie **200 µl** des Verdünnungspuffers in alle Röhren, außer denen für die Totalaktivität.
4. Mischen Sie die Röhren vorsichtig mit dem Vortexmischer und inkubieren für 2 Stunden mit einem Orbitalschüttler bei 150-450 rpm.
5. Nach dem Inkubieren saugen Sie den Inhalt der Röhren vollständig ab. Waschen Sie die Röhren einmal mit **2 ml** Waschlösung. Saugen Sie den Inhalt der Röhren vollständig ab und beseitigen Sie jede verbliebene Feuchtigkeit.
6. Geben Sie **250 µl** des radioaktiven Tracers (rot eingefärbt) in alle Röhren.
7. Inkubation der Röhren für 18-24 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C).
8. Saugen Sie sorgfältig die inkubierten Mischungen aus allen Röhren, außer denen der Totalaktivität.
9. Waschen Sie die Röhren 2x mit **2 ml** Waschlösung, außer denen der Totalaktivität. Saugen Sie die Inhalte der Röhren vollständig ab und beseitigen Sie jede verbliebene Feuchtigkeit.
10. Zählen Sie die an die Röhren gebundene Radioaktivität 1 Minute lang in einem Gamma-Zähler. Wir schlagen vor, den Hintergrund des Instruments vor dem Zählen zu messen. Um Abweichungen in der Sensitivität des Systems zu vermeiden, muß der Hintergrund auf ein Minimum reduziert oder angepasst werden.

SCHEMA DES NICHT – SENSITIVEN TESTVERLAUFS

Röhrchen	Totalaktivität	Kalibratoren	Kontrolle	Proben	Wiederfindung
Reagenz					
Kalibratoren	-	50 µl	-	-	-
Kontrolle	-	-	50 µl	-	-
Proben	-	-	-	50 µl	-
Gespikte Proben*	-	-	-	-	50 µl
Verdünnungspuffer	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Mischen mit dem Vortexmischer, für 2 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren und schütteln (150-450rpm). - Absaugen - waschen: 1x2 ml - Absaugen					
Tracer	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Inkubieren: 18-24 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C) - Absaugen - waschen: 2x2 ml - Absaugen - Zählen					

C. WIEDERFINDUNGSTEST

- Vorbereitung der Wiederfindungsproben (gespikte Proben*)
Verdünnen Sie die Hälfte der Proben mit den Inhalten der Fläschchen für die Wiederfindungstests; z.B. die 125µl Probe (75µl der nicht-sensitiven Methode) + 125 µl (75µl der nicht-sensitiven Methode) mit der Wiederfindungslösung.
Die Thyreoglobulinkonzentration in der Rückgewinnungslösung ist von Charge zu Charge unterschiedlich. Die genaue Konzentration entnehmen Sie bitte dem Etikett der Flasche.
Die so vorbereiteten Proben sind die „gespikten Proben“.
- Test mit gespikten und ungespikten Proben
In der gleichen Serie, erfolgt die Messung des Thyreoglobulins in beiden, den gespikten wie den ungespikten Proben.
- Kalkulation
Der Prozentsatz der Wiederfindung wird wie folgt kalkuliert:

$$\text{Wiederfindung (\%)} = \frac{\text{Wert der gespikten Proben}}{\text{Wert der ungespikten Proben + Konzentration der Rückgewinnungslösung} / 2} \times 100$$

Wenn keine Interferenzen auftreten, wird der Wiederfindungsprozentsatz nahe 100 % liegen. Ist der Prozentsatz der Wiederfindung niedriger als 80%, kann eine Interferenz mit TgAb angenommen werden und sollte durch die Messung des TgAb in der Probe verifiziert werden. Wenn der Wiederfindungsprozentsatz über 120% liegt, ist die beobachtete Interferenz nicht auf TgAb zurückzuführen.

8. KALKULATION DER RESULTATE

Ermitteln Sie die Eichkurve durch logarithmische Auftragung (log/lin) von B/T (%) von jedem Kalibrator (y-Achse), gegen die relative Konzentration (x-Achse). Kalkulieren Sie den B/T (%) von jeder Probe und ermitteln Sie die Konzentration durch Interpolation auf der Eichkurve

KALKULATIONSBEISPIEL

Die unten aufgeführten Werte müssen als Beispiel gesehen werden und sollten nicht an Stelle experimentell gewonnener Daten verwendet werden.

Die unten aufgeführten Werte müssen als Beispiel gesehen werden und sollten nicht an Stelle experimentell gewonnener Daten verwendet werden.

Beschreibung	Durchschnittlicher cpm	B/T (%)	hTG (ng/ml)
Totalaktivität (T)	247160	-	-
CAL 0	110	0,00	0
CAL 1	297	0,08	0,75
CAL 2	525	0,17	1,5
CAL 3	1351	0,50	5
CAL 4	4022	1,58	15
CAL 5	12023	4,82	50
CAL 6	45802	18,49	200
CAL 7	110743	44,76	600
Control	6890	3,1	27,0

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls Extra-Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

9. REFERENZWERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzintervalle bestimmt. Die unten aufgeführten Wertesind lediglich indikativ. Die normalen Werte für Thyreoglobulin wurden von 99 Proben bestimmt.

Die Höhe der Werte für das Thyreoglobulin betragen weniger als 50 ng/ml.

10. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

SPEZIFIZITÄT

Die Proben wurden in Assays verarbeitet, die eine Eins-zu-Eins-Verdünnung mit der Thyreoglobulin-Gewinnung enthielten. Die Prozentsätze der Wiederfindung wurden berechnet. Diese Bewertung wurde mit 100 Proben durchgeführt, die keine Anti-Thyreoglobulin-Autoantikörper (TgAb-negativ) und 100 Proben, die verschiedene Mengen an Anti-Thyreoglobulin-Autoantikörpern (TgAb-positiv) enthielten, im Bereich von 50 bis mehr als 5.000 IE / ml enthielten. Die mittleren Prozentsätze der Wiederfindung von "TgAb negativ" und "TgAb positiv" betragen 91 bzw. 85%. Daher wird keine Kreuzreaktion mit im menschlichen Serum vorhandenem TgAb beobachtet.

Für jede untersuchte Probe wird jedoch ein Erholungstest empfohlen, um die Ergebnisse zu validieren, da TgAb in Bezug auf Qualität und Quantität von den Patienten abweicht (vgl. Abschnitt 7.C).

SENSITIVITÄT

Analytische Sensitivität

Der LoB (Grenzwert des Blindwerts) wurde durch mehrmaliges Messen des Blindwerts berechnet und als Mittelwert + 2 Standardabweichungen der Verteilung der Testwerte berechnet; Der LoB wurde zu 0,18 ng / ml berechnet.

Die LoD (Nachweisgrenze) wurde als LoB + 1,645-Standardabweichung einer Probe mit niedriger Konzentration berechnet, die in 11 verschiedenen Läufen getestet wurde. Der LoD wurde zu 0,42 ng / ml berechnet.

Der LoQ (Bestimmungsgrenze) wurde durch elfmaliges Testen von 5 Proben mit niedrigen Werten berechnet. Der LoQ wurde zu 0,69 ng / ml berechnet.

PRÄZISION

Die Präzision wurde evaluiert nach Intra-Assay und Inter-Assay Variabilität, bei verschiedenen Konzentrationen der Analyten.

Intra-assay

Serum	durchschnittliche (ng/ml)	±	S.D.	V.K. (%)	N
1	9,4	±	0,2	2,4	20
2	51,9	±	0,8	1,6	20
3	112,8	±	1,7	1,5	20

Inter-assay

Serum	durchschnittliche (ng/ml)	±	S.D.	V.K. (%)	N
1	9,2	±	0,2	2,2	9
2	51,6	±	1,7	3,3	9
3	215,5	±	4,8	2,2	9

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit der Methode wurde durch analytische Wiederfindungs- und Paralleltests evaluiert.

Analytische Wiederherstellung

Stichprobe	Erwartet (ng/ml)	Gemessen (ng/ml)	Wiederherstellung (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
	327,8	327,6	99,9
2	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
	127	113,8	89,6
	327	312,5	95,6

Parallel – Test

Seren mit hohen, analytischen Konzentrationen werden mit unterschiedlichen Verdünnungen mit dem Null-Kalibrator getestet.

Verdünnung	erwartete Werte ng/ml	gemessene Werte ng/ml	wiedergefundene Werte (%)
S1 unverdünnt	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
S2 unverdünnt	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

HOOK-EFFEKT

Gespikte Proben mit gereinigtem humanem Thyreoglobulin bis zu 100.000 ng/ml ergeben höhere Werte als der letzte Kalibrator in beiden Verfahren.

ITALIANO

DOSAGGIO IMMUNORADIOMETRICO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELLA TIREOGLOBULINA UMANA NEL SIERO E PLASMA UMANO CON METODO ULTRAULTRASENSIBILE. R-CM-100 – 96 Determinazione

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

1. APPLICAZIONI CLINICHE

La tireoglobulina (hTg) è il componente principale del colloide dei follicoli tiroidei. L' hTg è una glicoproteina di 660 kda. L' hTg è specifica della cellula tiroidea e la determinazione della sua concentrazione ematica è pertanto di grande importanza per la diagnosi delle malattie tiroidee.

Nelle aree geografiche del gozzo endemico, la maggior parte delle persone affette da gozzo mostrano un livello di tireoglobulina considerevolmente superiore rispetto alle quello delle persone sane. Tuttavia alti livelli di tireoglobulina sono presenti anche tra i pazienti con gozzo sporadico in aree dove l'assimilazione di iodio è maggiore. In ambedue le situazioni, questi valori elevati sono correlati allo sviluppo del gozzo stesso.

Durante la fase iniziale della tiroidite subacuta, i livelli della tireoglobulina sono marcatamente elevati. Elevati livelli di hTg che persistono al termine di una terapia con farmaci antitiroidei sono considerati predittivi di una ricaduta dell'ipertiroidismo alla sospensione della terapia stessa. La determinazione dell' hTg costituisce quindi parte integrante del monitoraggio della malattia di Graves e del suo trattamento.

2. PRINCIPIO DEL METODO


Questo kit si basa su un metodo immunoradiometrico (IRMA) che utilizza provette sensibilizzate con anticorpi monoclonali diretti contro differenti epitopi della molecola di Tg. Tre anticorpi di cattura sono adesi alle pareti interne della provetta. La Tg dei calibratori o dei campioni è catturata da questi anticorpi. L'aggiunta del quarto anticorpo marcato con Iodio¹²⁵ completa il sistema, consentendo così la formazione di un ponte tra gli anticorpi adesi alla provetta e l'anticorpo marcato.

Al termine del lavaggio, la radioattività residua nella provetta è direttamente proporzionale alla concentrazione di Tg nei calibratori o nei campioni.

La scelta accurata dei quattro anticorpi monoclonali permette di ottenere un'alta specificità e sensibilità del test evitando un eccesso di specificità che talvolta viene contestata all'analisi immunometrica che utilizza soltanto due anticorpi monoclonali.

3. REAGENTI FORNITI NEL KIT

- I reagenti sono sufficienti per 96 determinazioni.
- Custodire il kit ed i reagenti ad una temperatura di 2-8°C.
- La scadenza d'ogni reagente è indicata sull'etichetta.

Reattivi	Kit da 96 test	Volume di ricostituzione		
 Tubes coated with three anti-human thyroglobulin mouse monoclonal antibodies.	2 x 48	Pronta per l'uso		
<table border="1" data-bbox="76 1787 252 1839"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> Tracciante Radioattivo : anticorpi monoclonali di topo anti-tireoglobulina umana. Conservanti : NaN3 (< 0.1 %).	Ab	¹²⁵ I	1 flaconcino 27.5 ml ±480 kBq	Pronta per l'uso
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0 Calibratore Zero Conservanti : NaN3 (< 0.1 %)	1 flaconcino 3 ml	Pronta per l'uso		
[CAL]N	7 flaconcini 1 ml	Pronta per l'uso		

Calibratori – N = 7 tireoglobulina umana in Tampone fosfato. Conservanti : NaN3 (< 0.1 %)					
[CONTROL] Siero di Controllo tireoglobulina umana in tampone fosfato contenente proteine e stabilizzatori delle proteine. Conservanti : NaN3 (< 0.1 %)	1 flaconcino 1 ml	Pronta per l'uso			
<table border="1" data-bbox="837 320 991 349"> <tr> <td>DIL</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Diluente dei Campioni soluzione tampone fosfato con BSA Conservanti : NaN3 (< 0.1 %)	DIL	BUF	1 flaconcino 25 ml	Pronta per l'uso	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="837 432 1086 461"> <tr> <td>RECOVERY</td> <td>SOLN</td> </tr> </table> Recupero tireoglobulina a umana in Tampone fosfato contenente proteine e stabilizzatori delle proteine. La concentrazione di tireoglobulina è variabile da lotto a lotto. Si prega di fare riferimento all'etichetta della bottiglia per l'esatta concentrazione. Conservanti : NaN3 (< 0.1 %)	RECOVERY	SOLN	1 flaconcino 4.2 ml	Pronta per l'uso	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="837 611 1118 640"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Soluzione di Lavaggio (concentrata, 50X): TRIS-HCl con detergente Conservanti : NaN3 (< 0.1 %)	WASH	SOLN	CONC	1 flaconcino 20 ml	1000 ml con acqua distillata
WASH	SOLN	CONC			

1. **Sieri di Control e Calibratori:** Per la concentrazione esatta, fare riferimento al valore indicato sull'etichetta della fiala. Il calibratore 1 può essere usato solo con il metodo ultrasensibile. I calibratori sono calibrati sulla preparazione europeo di Riferimento di hTg, MRC457.

4. **Provette Sensibilizzate:** Le provette non utilizzate vanno custodite ad una temperatura di 2-8°C al riparo dall'umidità.

5. **Soluzione di Lavaggio (concentrata 50X):** Portare a 1000 ml con acqua distillata. La Soluzione di Lavaggio diluita rimane stabile per 2 mesi ad una temperatura di 2-8°C.

4. MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Provette di plastica.
- Portaprovette.
- Micropipette automatiche e regolabili con puntali intercambiabili.
- Vortex.
- Cilindro graduato.
- Pompa d'aspirazione o dispositivo di lavaggio automatico.
- Contatore gamma a scintillazione.
- Acqua distillata.
- Agitatore orbitale regolabile a 150-450 giri/min.

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI D'USI

Questo materiale deve essere usato esclusivamente ai fini della diagnostica in vitro.

Il kit è destinato a un uso professionale. Deve quindi essere utilizzato esclusivamente da parte di personale di laboratorio esperto, conformemente alle buone norme di laboratorio GLP.

Materiale radioattivo - Non somministrare per via interna o esterna a esseri umani o agli animali.

Per ottenere risultati riproducibili, rispettare le seguenti regole:

- Non mescolare reagenti di lotti diversi.
- Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.
- Utilizzare utensili in vetro perfettamente puliti.
- Utilizzare l'acqua distillata conservata in appositi recipienti.
- Evitare qualunque contaminazione dei campioni. Per farlo, utilizzare punte usa e getta per ogni campione e reagente.

Sicurezza:

Da utilizzare esclusivamente per la diagnostica in vitro. Questo kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni), un materiale radioattivo emettente radiazioni ionizzanti X (28 keV) e γ (35,5 keV). Questo prodotto radioattivo può essere ricevuto, acquistato, posseduto o utilizzato esclusivamente da persone autorizzate; l'acquisto, lo stoccaggio, l'uso e la sostituzione di prodotti radioattivi sono soggetti alle leggi in vigore nel Paese dell'utente finale. Questo prodotto non può essere somministrato in alcun caso all'uomo o agli animali. Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere eseguite in un'area apposita, lontana da qualunque passaggio. In laboratorio occorre tenere aggiornato un registro di ricezione e stoccaggio dei materiali radioattivi. Gli strumenti di laboratorio e gli utensili in vetro che

potrebbero essere contaminati da sostanze radioattive devono essere isolati in modo da evitare la contaminazione incrociata di diversi isotopi.

Qualunque contaminazione o perdita di sostanze radioattive dovrà essere risolta in conformità con le procedure di sicurezza contro la radioattività. I rifiuti radioattivi devono essere posizionati in modo da rispettare le norme in vigore. Il rispetto delle regole di sicurezza di base in merito alle radiazioni offre una protezione adeguata

I componenti di sangue umano compresi in questo kit sono stati valutati con metodi approvati dall'Europa e/o da FDA e sono negativi per HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 e 2. Nessun metodo noto può offrire garanzia totale del fatto che i derivanti del sangue umano non trasmettano l'epatite, l'AIDS o altre infezioni. Pertanto, il trattamento dei reagenti, del siero o dei campioni di plasma dovranno essere conformi alle procedure locali di sicurezza.

Tutti i prodotti animali e i loro derivati sono stati raccolti da animali sani. I componenti bovini provengono da Paesi in cui non è stata rilevata la presenza di BSE. Ciononostante, i componenti contenenti sostanze animali dovranno essere trattati come potenzialmente infettivi.

L'azoturo di sodio è tossico se inalato, ingerito o se entra in contatto con la pelle (l'azoturo di sodio viene utilizzato come agente di conservazione). L'acido in questo kit potrebbe reagire con il piombo e il rame se finiscono nelle tubazioni di scarico e creare composti esplosivi, è necessario quindi lavare abbondantemente con l'acqua il materiale utilizzato.

Non fumare, bere né mangiare o applicare cosmetici nei laboratori in cui vengono utilizzati prodotti radioattivi. Non pipettare con la bocca. Utilizzare abbigliamento protettivo e guanti monouso.

Per maggiori informazioni, consultare la scheda tecnica di sicurezza (MSDS).

6. RACCOLTA DEI CAMPIONI

Sieri lipemici possono dare dei risultati aberranti. I campioni possono essere conservati ad una temperatura di 2°-8°C per un massimo di 24 ore. Per lo stoccaggio a lungo termine, i campioni vanno suddivisi in aliquote e congelati a -20°C. Evitare il congelamento e lo scongelamento ripetuto. Dopo lo scongelamento e prima dell'uso, mescolare i campioni per inversione.

Anche se le interferenze da autoanticorpi anti-tireoglobulina (TgAb) sono state ridotte considerevolmente tramite una scelta accurata degli anticorpi monoclonali utilizzati nel test, si consiglia di verificare la validità del risultato della tireoglobulina eseguendo un test di recupero, facendo riferimento alle procedure di seguito riportate.

Il siero o il plasma EDTA forniscono risultati simili.

$$Y (\text{plasma}) = 0,99x (\text{siero}) + 0,44 \quad r = 0,99 \quad n = 20$$

7. PROCEDURA OPERATIVA

- Portare i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (18-25°C).
- Mescolare i campioni agitandoli delicatamente prima dell'uso.
- Per tutti i calibratori si consiglia di effettuare il dosaggio in doppio.

A. PROCEDURA DEL METODO ULTRASENSIBILE

1. Preparare le provette per i Calibratori, il siero/plasma da testare, il Recupero e il Siero di Controllo in duplicato. Utilizzare provette di polistirene non sensibilizzate per la misurazione dell'Attività Totale.
2. Dispensare **100 µl** di Calibratori, Campioni, campioni addizionati e Siero di Controllo nelle rispettive provette. Dispensare il materiale direttamente sul fondo delle provette.
3. Aggiungere **100 µl** di Diluente dei Campioni a tutte le provette, tranne a quelle per l'Attività Totale.
4. **Mescolare delicatamente le provette con il vortex ed incubare per 2 ore** in agitazione a 150-450 giri/min.
5. Alla fine dell'incubazione, aspirare completamente il contenuto delle provette. Lavare le provette una volta con **2 ml** di Soluzione di Lavaggio. **Aspirare completamente e rimuovere eventuali residui d'umidità.**
6. Aggiungere **250 µl** di tracciante radioattivo (di colore rosso) in tutte le provette.
7. Incubare le provette per **18-24 ore** a temperatura ambiente (18-25°C).
8. Aspirare attentamente la miscela d'incubazione da tutte le provette tranne da quelle dell'Attività Totale.
9. Lavare le provette due volte con **2 ml** di Soluzione di Lavaggio tranne le provette dell'Attività Totale. **Aspirare completamente il contenuto delle provette e togliere eventuali residui d'umidità.**

10. Misurare la radioattività delle provette per 1 minuto in un contatore gamma. Si consiglia di controllare il background dello strumento prima di effettuare la misurazione per il dosaggio. Per evitare variazioni di sensibilità nel sistema, è necessario che il background sia ridotto al minimo o opportunamente corretto.

SCHEMA DEL DOSAGGIO CON LA PROCEDURA ULTRASENSIBILE

Provette	Attività totale	Calibratori	Siero Controllo	Campioni	Recupero
Reagente					
Calibratori	-	100 µl	-	-	-
Siero di Controllo	-	-	100 µl	-	-
Campioni	-	-	-	100 µl	-
Campioni addizionati*	-	-	-	-	100 µl
Diluente	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Campioni					
- Mescolare con il vortex ed incubare per 2 ore a temperatura ambiente (18-25°C) in agitazione (150-450 giri/min.).					
- Aspirare - lavare: 1 x 2 ml - aspirare					
Tracciante	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Incubazione: 18 - 24 ore a temperatura ambiente (18-25°C)					
- Aspirare e-lavare: 2 x 2 ml - aspirare					
- Lettura					

B. PROCEDURA DEL METODO NORMALE

1. Preparare le provette per i Calibratori, il siero/plasma da testare, il Recupero e il Siero di Controllo in duplicato. Usare le provette di polistirene non sensibilizzate per la misurazione dell'Attività Totale.
2. Dispensare **50 µl** di Calibratori, Campioni, campioni addizionati e Siero di Controllo nelle rispettive provette sensibilizzate. Dispensare il materiale direttamente sul fondo delle provette.
Non usare il calibratore 1.
3. Aggiungere **200 µl** di Diluente dei Campioni a tutte le provette, tranne a quelle dell'Attività Totale.
4. Mescolare delicatamente le provette con il vortex ed incubare per **2 ore** in agitazione a 150-450 giri/min.
5. Alla fine dell'incubazione, aspirare completamente i contenuti delle provette. Lavare le provette una volta con **2 ml** di Soluzione di Lavaggio. **Aspirare completamente e rimuovere eventuali residui d'umidità.**
6. Aggiungere **250 µl** di Tracciante radioattivo (di colore rosso) in tutte le provette.
7. Incubare le provette per **18-24 ore** a temperatura ambiente (18-25°C).
8. Aspirare attentamente la miscela d'incubazione da tutte le provette tranne da quelle dell'Attività Totale.
9. Lavare le provette due volte con **2 ml** di Soluzione di Lavaggio tranne quelle dell'Attività Totale. **Aspirare completamente il contenuto delle provette e togliere eventuali residui d'umidità.**
10. Misurare la radioattività nelle provette per 1 minuto in un contatore gamma. Si consiglia di controllare il background dello strumento prima di effettuare la misurazione per il dosaggio. Per evitare variazioni di sensibilità nel sistema, è necessario che il background sia ridotto al minimo o opportunamente corretto.

SCHEMA DEL DOSAGGIO CON LA PROCEDURA NORMALE

Provette	Attività totale	Calibratori	Siero Controllo	Campioni	Recupero
Reagente					
Calibratori	-	50 µl	-	-	-
Controllo	-	-	50 µl	-	-
Campioni	-	-	-	50 µl	-
Campioni addizionati*	-	-	-	-	50 µl
Diluente	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Mescolare con il vortex ed incubare per 2 ore a temperatura ambiente (18-25°C) in agitazione (150-450 giri/min.).					
- Aspirare - lavare: 1 x 2 ml - aspirare					
Tracciante	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Incubazione: 18 - 24 ore a temperatura ambiente (18-25°C)					
- Aspirare - lavare: 2 x 2 ml - aspirare					
- Lettura					

C. TEST DI RECUPERO

1. Preparazione dei campioni di recupero (campioni addizionati*).

Diluire 1:2 il campione con il contenuto del flacone di Recupero, ad esempio: campione di 125 µl (75 µl se si usa il metodo normale) + 125 µl (75 µl con il metodo normale) di soluzione di Recupero. La concentrazione di tireoglobulina nella soluzione di recupero varia da lotto a lotto. Si prega di fare riferimento all'etichetta della bottiglia per l'esatta concentrazione. I campioni preparati in questa maniera sono i "campioni addizionati".

2. Analisi dei campioni non addizionati e dei campioni addizionati.

Nella stessa serie, misurare la tireoglobulina sia nei campioni non addizionati che nei campioni addizionati.

3. Calcolo.

La percentuale di recupero è calcolata come segue:

$$\text{Recupero (\%)} = \frac{\text{Valore del campione addizionato}}{\text{(Valore del campione non addizionato + concentrazione della soluzione di recupero)/2}} \times 100$$

Se non ci sono interferenze, il recupero sarà quasi del 100%. Se il recupero è inferiore all'80%, si può presupporre un'interferenza della TgAb e si deve verificare misurando la TgAb nel campione. Se il recupero è superiore al 120%, le interferenze osservate non dipendono da TgAb.

8. CALCOLO DEI RISULTATI

Disegnare la curva di calibrazione su carta millimetrata log/lin riportando sull'asse Y il valore B/T (%) di ogni calibratore e sull'asse X la relativa concentrazione. Calcolare il valore B/T (%) di ogni campione e leggere il valore della concentrazione per interpolazione sulla curva di calibrazione.

ESEMPIO DI CALCOLO

I valori sottoriportati vanno considerati semplici esempi e non vanno usati in sostituzione dei dati sperimentali.

Descrizione	Valore Medio cpm	B/T (%)	hTg-conc. (ng/ml)
Attività Totale(T)	247160	-	-
CAL 0	110	0,00	0
CAL 1	297	0,08	0,75
CAL 2	525	0,17	1,5
CAL 3	1351	0,50	5
CAL 4	4022	1,58	15
CAL 5	12023	4,82	50
CAL 6	45802	18,49	200
CAL 7	110743	44,76	600
SIERO	6890	3,1	27,0
CONTROLO			

CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all'interno dei limiti riportati sull'etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente.
- Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote. Non congelare e scongelare un'aliquota più di due volte.
- I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.

9. VALORI DI RIFERIMENTO

Si consiglia ad ogni laboratorio di determinare il proprio intervallo di riferimento. I valori sottoriportati sono solo indicativi. I valori normali della globulina tiroidea sono stati determinati su 99 campioni ed è stato evidenziato che i livelli di tireoglobulina sono inferiori a 50 ng/ml.

10. CARATTERISTICHE METODOLOGICHE SPECIFICITÀ

I campioni sono stati elaborati in saggi che includevano una diluizione uno a uno con Thyroglobulin Recovery. Sono state calcolate le percentuali di recupero. Questa valutazione è stata effettuata con 100 campioni non contenenti autoanticorpi anti-tireoglobulina (TgAb negativi) e 100 campioni contenenti vari livelli di auto-anticorpi anti-tireoglobulina (TgAb positivi) compresi tra 50 e oltre 5.000 UI / ml.

Le percentuali medie di recupero di "TgAb negativo" e "TgAb positivo" sono rispettivamente del 91 e dell'85%. Pertanto, non si osserva alcuna reazione crociata con TgAb presente nel siero umano.

Tuttavia, un test di recupero è consigliato per ogni campione studiato per convalidare i risultati poiché TgAb varia da paziente in termini di qualità e quantità (cfr. Sezione 7.C).

SENSIBILITÀ

Sensibilità analitica

Il LoB (limite del bianco) è stato calcolato misurando più volte il bianco ed è stato calcolato come media + 2 deviazioni standard della distribuzione dei valori di prova; il LoB è stato calcolato pari a 0,18 ng / ml.

Il LoD (limite di rilevamento) è stato calcolato come loB + 1.645 deviazioni standard di un campione a bassa concentrazione testato in 11 diverse sessioni. Il LoD è stato calcolato pari a 0,42 ng / ml.

Il LoQ (limite di quantificazione) è stato calcolato testando 5 campioni con valori bassi, 11 volte. Il LoQ è stato calcolato pari a 0,69 ng / ml.

PRECISIONE

La precisione è stata valutata sulla variabilità intra-saggio e inter-saggio a differenti concentrazioni analitiche.

Intra-saggio

Siero	Valore medio (ng/ml)	±	SD	C.V. (%)	N
1	9,4	±	0,2	2,4	20
2	51,9	±	0,8	1,6	20
3	112,8	±	1,7	1,5	20

Inter-saggio

Siero	Valore medio (ng/ml)	±	SD	C.V. (%)	N
1	9,2	±	0,2	2,2	9
2	51,6	±	1,7	3,3	9
3	215,5	±	4,8	2,2	9

ACCURATEZZA

L'accuratezza del metodo è stata valutata eseguendo il test di analitico recupero ed di parallelismo.

Recupero analitico

Campione	Previsto (ng/ml)	Misurato (ng/ml)	Recupero (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
327,8	327,6	99,9	
2	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
	127	113,8	89,6
	327	312,5	95,6

Parallelismo

Sono stati analizzati campioni di siero con un'alta concentrazione analitica a differenti diluzioni con il Calibratore Zero.

Diluzione	Valore atteso (ng/ml)	Valore misurato (ng/ml)	Recupero (%)
S1 non diluito	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
S2 non diluito	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

EFFETTO GANCIO

I campioni addizionati con tireoglobulina umana purificata fino a raggiungere la concentrazione di 100.000 ng/ml hanno fornito valori superiori rispetto all'ultimo calibratore in ambedue le procedure.

ESPAÑOL

RADIONMUNOANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE LA TIROGLOBULINA HUMANA EN SUERO HUMANO Y PLASMA. MÉTODO SENSIBLE.

R-CM-100 - 96 determinaciones

SÓLO PARA USO EN DIAGNÓSTICOS IN VITRO

1. APLICACIONES CLÍNICAS

La tiroglobulina (hTg) es el principal componente de la sustancia coloidal en los folículos tiroideos. La hTg es una glucoproteína con un peso molecular de 660 kDa. Dado que la hTg es específica de la célula tiroidea, la determinación de su concentración en sangre tiene una gran importancia en el diagnóstico de enfermedades tiroideas.

En zonas de gofio endémico, la mayoría de las personas afectadas presentan niveles de tiroglobulina notablemente mayores que en los casos control considerados normales. Sin embargo, también se observan niveles elevados de tiroglobulina en pacientes con gofio esporádico en zonas en las que la ingesta de yodo es considerablemente superior al recomendado o la OMS. En ambas situaciones, la presencia de valores elevados está correlacionada con el propio desarrollo del gofio. Durante la fase inicial de la tiroiditis subaguda, los niveles de tiroglobulina son notablemente elevados. La persistencia de niveles altos de hTg al final del tratamiento con un fármaco antitiroideo se considera como indicación predictiva de recidiva de hipertiroidismo al suspenderse la terapia. Así pues, la determinación del nivel de hTg forma parte de la monitorización y el tratamiento de la enfermedad de Graves.

2. PRINCIPIO DEL ANÁLISIS


Este kit de análisis es un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) basado en tubos recubiertos con anticuerpos monoclonales dirigidos contra distintos epítopos de la molécula de hTg.

Estos anticuerpos capturan la hTg de los calibradores o de las muestras. La adición del cuarto anticuerpo, marcado con ¹²⁵I completa el sistema, lo que permite la formación de un puente entre los anticuerpos de recubrimiento y el anticuerpo marcado. Después del lavado, la radiactividad remanente de los tubos está directamente relacionada con la concentración de hTg en los calibradores o en las muestras.

La cuidadosa selección de los 3 anticuerpos monoclonales permite una gran sensibilidad y especificidad, que ésta sea excesiva, como los análisis inmunométricos con sólo dos monoclonales.

3. MATERIAL SUMINISTRADO

- Reactivos suficientes para 96 determinaciones.
- Almacene el kit y los reactivos a 2-8°C.
- La fecha de caducidad de cada reactivo se muestra en la etiqueta.

Reactivos	Kit 96 tests	Reconstitución		
 tubos recubiertos con tres anticuerpos monoclonales de ratón anti-tiroglobulina humana.	2 x 48	Lista para usar		
<table border="1" data-bbox="76 1720 252 1778"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> TRACER : anticuerpo monoclonal de ratón anti-tiroglobulina humana. Conservantes : NaN3 (<0.1%),	Ab	¹²⁵ I	1 Vial 27.5 ml ±480 kBq	Lista para usar
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0 Calibrador cero Preservative: NaN3 (<0.1%)	1 Vial 3 ml	Lista para usar		
[CAL]N Calibrador - N = 7 tiroglobulina humana en tampón fosfato. Conservantes : NaN3 (<0.1%)	7 Vials 1 ml	Lista para usar		

[CONTROL] Control tiroglobulina humana en tampón fosfato con proteínas y estabilizadores de proteínas. Preservative: NaN3 (<0.1%).	1 Vial 1 ml	Lista para usar			
<table border="1" data-bbox="842 232 991 255"> <tr> <td>DIL</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Diluent Buffer phosphate buffer solution with BSA and Conservantes: NaN3 (<0.1%).	DIL	BUF	1 Vial 25 ml	Lista para usar	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="842 344 1082 367"> <tr> <td>RECOVERY</td> <td>SOLN</td> </tr> </table> Recuperación tiroglobulina humana en tampón fosfato con proteínas y estabilizadores de proteínas. La concentración de tiroglobulina es variable de un lote a otro. Consulte la etiqueta de la botella para conocer la concentración exacta. Conservantes: NaN3<0.1 %.	RECOVERY	SOLN	1 Vial 4.2 ml	Lista para usar	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="842 546 1118 568"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Solución de lavado (concentración x 50) TRIS-HCl con detergente Conservantes : NaN3 (<0.1%).	WASH	SOLN	CONC	1 Vial 20 ml	Disolver en agua destilada 1000ml
WASH	SOLN	CONC			

- Control y Calibradores:** Para conocer el valor exacto, consulte la etiqueta del vial
El calibrador 1 se puede utilizar únicamente con el método sensible.
Los calibradores se calibran con respecto a la preparación de referencia europea de hTg MRC457.
- Tubos recubiertos:** Los tubos que no se usen deberán almacenarse a 2-8°C protegidos de la humedad.
- Solución de lavado (concentración x 50):** Disolver en agua destilada hasta obtener un volumen de 1000 ml. La solución de lavado diluida se mantiene estable durante 2 meses a 2-8°C.

4. MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Tubos de ensayo de plástico
- Gradillas de tubos de ensayo.
- Micropipetas automáticas ajustables con puntas desechables.
- Mezclador vórtex.
- Cilindro graduado.
- Bomba de aspiración o aparato de lavado automático.
- Contador de centelleo gamma.
- Agua destilada.
- Agitador orbital ajustable a 150-450 rpm.

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA EL USUARIO

Para uso diagnóstico in vitro. Material radioactivo. Esta prueba sólo debe realizarla personal de laboratorio con experiencia y de acuerdo con GLP.

Material radioactivo. Se recomienda evitar su administración por vía interna o externa a seres humanos o animales.

Para conseguir resultados reproducibles, deberán observarse las siguientes normas:

- No mezcle reactivos de lotes distintos.
- No utilice reactivos después de que se haya cumplido su fecha de caducidad.
- Utilice material de vidrio totalmente limpio.
- Utilice agua destilada, almacenada en recipientes limpios.
- Evite que se produzca cualquier contaminación entre muestras; para ello, deberán utilizarse puntas desechables para cada muestra y reactivo.

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I125 (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA ó otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo sustancias animales deberán ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

Para obtener más información, consulte la Hoja de datos de seguridad del material (MSDS).

6. RECOGIDA DE MUESTRAS

Los sueros de alto contenido lipídico pueden dar lugar a resultados aberrantes. Las muestras se pueden almacenar a 2°-8°C un máximo de 24 horas. Para un almacenamiento de larga duración, las muestras deben ser alícuotadas y congeladas a -20°C. Evite la congelación y descongelación repetida. Después de la descongelación y antes del uso, mezcle las muestras por inversión.

Aunque se han reducido considerablemente las interferencias de autoanticuerpos anti-tiroglobulina (TgAb) mediante una cuidadosa selección de los anticuerpos monoclonales que intervienen en el análisis, es recomendable verificar la validez del resultado de tiroglobulina a través de una prueba de recuperación tal y como se describe a continuación.

El suero o el plasma con EDTA proporcionan resultados similares.
Y (plasma) = 0,99x (suero) + 0,44 r = 0,99 n = 20

7. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

- Asegúrese de que todas las muestras y los reactivos se encuentran a temperatura ambiente (18-25°C) antes de utilizarlos.
- Antes de su uso, mezcle las muestras por inversión.
- Se recomienda medir todos los calibradores por duplicado.

A. PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS SENSIBLE

1. Prepare tubos para los calibradores, los plasmas/sueros determinar, las muestras de recuperación y el control por duplicado. Utilice tubos de poliestireno no sensibilizado para la medición de la actividad total.
2. Añada **100 µl** de calibradores, las muestras, las muestras con adición y del control en los ricubiertos correspondientes. depositar directamente sobre el fondo de los tubos.
3. Añada **100 µl** de diluyente en todos estos tubos, excepto en los de actividad total.
4. Mezcle suavemente el contenido de los tubos con el vórtex e incúbelos durante 2 horas en un agitador orbital a 150-450 rpm.
5. Finalizada la incubación, aspire completamente el contenido de los tubos. Lave una vez los tubos con **2 ml** de solución de lavado. **Aspire completamente y elimine cualquier humedad residual.**
6. Añada a todos los tubos **250 µl** de trazador radiactivo (en color rojo).
7. Incube los tubos durante 18-24 horas a temperatura ambiente (18-25°C).
8. Aspire cuidadosamente la mezcla de incubación de todos los tubos exceptuando de los de actividad total.
9. Lave dos veces con **2 ml** de solución de lavado todos los tubos, exceptuando los de actividad total. **Aspire completamente el contenido de los tubos y elimine la humedad residual.**
10. Mida la radiactividad de los tubos durante 1 minuto con un contador gamma. Es recomendable controlar el ruido de fondo del instrumento antes de realizar el contaje. Para evitar variaciones en la sensibilidad del sistema, el ruido del fondo debe reducirse al mínimo o ajustarse debidamente.

ESQUEMA DEL ANÁLISIS CON EL PROCEDIMIENTO SENSIBLE

Tubos	Actividad total	Calibra-dores	Control	Mues-tras	Recupe-ración
Reactivo					
Calibradores	-	100 µl	-	-	-
Control	-	-	100 µl	-	-
Muestras	-	-	-	100 µl	-
Muestras con adición*	-	-	-	-	100 µl
Diluyente	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Mezclar con vórtex e incubar durante 2 h a temperatura ambiente (18-25°C) en agitación (150-450 rpm). Aspirar - lavar 1 x 2 ml - aspirar					
Trazador	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
Incubar 18 – 24 h a temperatura ambiente (18-25°C) Aspirar - lavar : 2 x 2 ml - aspirar Recuento					

B. PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS NO SENSIBLE

1. Prepare tubos para los calibradores, los plasmas/sueros determinar, las muestras de recuperación y el control por duplicado. Utilice tubos de poliestireno no sensibilizado para la determinación de la actividad total.
2. Añada **50 µl** de los calibradores, las muestras con adición y del control en los tubos recubiertos correspondientes. Depositar directamente sobre el fondo de los tubos.
No utilice el calibrador 1.
3. Añada **200 µl** de diluyente en todos estos tubos, excepto en los de actividad total.
4. Mezcle suavemente el contenido de los tubos con el vórtex e incúbelos durante 2 horas en un agitador orbital a 150-450 rpm.
5. Finalizada la incubación, aspire completamente el contenido de los tubos. Lave una vez los tubos con **2 ml** de solución de lavado. **Aspire completamente y elimine cualquier humedad residual.**
6. Añada a todos los tubos **250 µl** de trazador radiactivo (en color rojo).
7. Incube los tubos durante 18-24 horas a temperatura ambiente (18-25°C).
8. Aspire cuidadosamente la mezcla de incubación de todos los tubos exceptuando de los de actividad total.
9. Lave dos veces con **2 ml** de solución de lavado todos los tubos, exceptuando los de actividad total. **Aspire completamente el contenido de los tubos y elimine la humedad residual.**
10. Mida la radiactividad de los tubos durante 1 minuto con un contador gamma. Es recomendable controlar el ruido de fondo del instrumento antes de realizar el contaje. Para evitar variaciones en la sensibilidad del sistema, el ruido del fondo debe reducirse al mínimo o ajustarse debidamente.

ESQUEMA DEL ANÁLISIS CON EL PROCEDIMIENTO NO SENSIBLE

Tubos	Actividad total	Calibra-dores	Control	Muestras	Recupe-ración
Reactivo					
Calibradores	-	50 µl	-	-	-
Control	-	-	50 µl	-	-
Muestras	-	-	-	50 µl	-
Muestras con adición*	-	-	-	-	50 µl
Diluyente	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Mezclar con vórtex e incubar durante 2 h a temperatura ambiente (18-25°C) en agitación (150-450 rpm). -Aspirar - lavar 1 x 2 ml - aspirar					
Trazador	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
Incubar : 18 – 24 h a temperatura ambiente (18-25°C) Aspirar - lavar : 2 x 2 ml - aspirar Recuento					

C. PRUEBA DE RECUPERACIÓN

1. Preparación de las muestras de recuperación (muestras con adición*).

Diluya 1/2 de las muestras con el contenido del vial de recuperación; por ejemplo, 125 µl de muestra (75 µl con el método no sensible) + 125 µl de solución de recuperación (75 µl con el método no sensible). La concentración de tiroglobulina en la solución de recuperación varía de un lote a otro. Consulte la etiqueta de la botella para conocer la concentración exacta. Las muestras preparadas de este modo son denominadas "muestras con adición".

2. Análisis de las muestras sin adición y de las muestras con adición.

En la misma serie, determine el nivel de tiroglobulina tanto en las muestras sin adición como en las muestras con adición.

3. Cálculo.

El porcentaje de recuperación se calcula del modo siguiente:

$$\text{Recuperación (\%)} = \frac{\text{Valor de la muestra con adición}}{(\text{Valor de la muestra sin adición} + \text{concentración de la solución de recuperación})/2} \times 100$$

Si no existe interferencia, la recuperación se aproximará al 100%. Si la recuperación es inferior al 80%, puede suponerse que existe una interferencia de TgAb, lo que deberá ser verificado a través de la medición del nivel de TgAb en la muestra. Si la recuperación supera el 120%, la interferencia observada no se debe al nivel de TgAb.

8. CÁLCULO DE RESULTADOS

Trace la curva de calibración sobre una gráfica log/lin a partir de los valores de B/T (%) obtenidos para cada calibrador (eje y) con respecto a la concentración relativa (eje x). Calcule el valor B/T (%) de cada muestra y lea la concentración interpolando la curva de calibración.

EJEMPLO DE CÁLCULO

Los valores que se indican a continuación son simplemente ilustrativos y no deben emplearse en lugar de los datos experimentales.

Descripción	Promedio cpm	B/T (%)	Conc. hTg (ng/ml)
Actividad total (T)	247160	-	-
CAL 0	110	0,00	0
CAL 1	297	0,08	0,75
CAL 2	525	0,17	1,5
CAL 3	1351	0,50	5
CAL 4	4022	1,58	15
CAL 5	12023	4,82	50
CAL 6	45802	18,49	200
CAL 7	110743	44,76	600
CONTROL	6890	3,1	27,0

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, los cuales se guardan en alícuotas congeladas.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los duplicados de los resultados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

9. VALORES DE REFERENCIA

Es recomendable que cada laboratorio determine su propio intervalo de referencia. Los valores que se indican a continuación son meramente indicativos.

Se han determinado los valores normales de tiroglobulina con 99 muestras; el nivel de tiroglobulina detectado es inferior a 50 ng/ml.

10. RENDIMIENTO DEL ANÁLISIS

ESPECIFICIDAD

Las muestras se procesaron en ensayos que incluían una dilución de uno a uno con Thyroglobulin Recovery. Se calcularon los porcentajes de recuperación. Esta evaluación se realizó con 100 muestras que no contenían autoanticuerpos anti-tiroglobulina (TgAb negativo) y 100 muestras que contenían varios niveles de autoanticuerpos anti-tiroglobulina (TgAb positivos) que van desde 50 hasta más de 5.000 UI / ml.

Los porcentajes medios de recuperación de "TgAb negativo" y "TgAb positivo" son 91 y 85%, respectivamente. Por tanto, no se observa ninguna reacción cruzada con el TgAb presente en el suero humano.

Sin embargo, se recomienda una prueba de recuperación para cada muestra estudiada para validar los resultados, ya que el TgAb varía de los pacientes en términos de calidad y cantidad (cfr. Sección 7.C).

SENSIBILIDAD

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El LoB (límite del blanco) se calculó midiendo el blanco varias veces y se calculó como la media + 2 desviaciones estándar de la distribución de los valores de prueba; se calculó que el LoB era 0,18 ng / ml.

El LoD (límite de detección) se calculó como el LoB + 1.645 desviaciones estándar de una muestra de baja concentración probada en 11 series diferentes. Se calculó que el LoD era 0,42 ng / ml.

El LoQ (límite de cuantificación) se calculó probando 5 muestras de valores bajos, 11 veces. Se calculó que el LoQ era 0,69 ng / ml.

PRECISIÓN

La precisión se evaluó sobre la variabilidad intra-ensayo y inter-ensayo, con concentraciones de analito distintas.

Intra-ensayo

Suero	Media	± (ng/ml)	D.E.	C.V. (%)	N
1	9,4	±	0,2	2,4	20
2	51,9	±	0,8	1,6	20
3	112,8	±	1,7	1,5	20

Inter-ensayo

Suero	Media	± (ng/ml)	D.E.	C.V. (%)	N
1	9,2	±	0,2	2,2	9
2	51,6	±	1,7	3,3	9
3	215,5	±	4,8	2,2	9

EXACTITUD

La exactitud del método ha sido evaluada mediante pruebas de recuperación analítica y paralelismo.

Recuperación analítica

Muestra	Esperado (ng/ml)	Medido (ng/ml)	Recuperación (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
	327,8	327,6	99,9
2	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
	127	113,8	89,6
	327	312,5	95,6

Prueba de paralelismo

Los sueros con una elevada concentración de analito fueron analizados a distintas diluciones con el calibrador cero.

Dilución	Previsto (ng/ml)	Medido (ng/ml)	Recuperación (%)
S1 sin diluir	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
S2 sin diluir	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

EFECTO HOOK

Las muestras a las que se añadió tiroglobulina humana purificada hasta un nivel de 100.000 ng/ml presentaron valores mayores que los del último calibrador en ambos procedimientos.

PORTUGES

ENSAIO IMUNORADIOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE TIROGLOBULINA HUMANA EM SORO E PLASMA HUMANO. MÉTODO SENSÍVEL. R-CM-100 - 96 Determinações

SOMENTE PARA USO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. APLICAÇÕES CLÍNICAS

Tiroglobulina (hTg) é o principal componente do colóide em folículos da tireóide. O hormônio Tg é uma glicoproteína de 660000 MW e é específica para células tireóide, a determinação de sua concentração no sangue é de grande significado para o diagnóstico de doenças da tireóide.

Nas áreas de bócio endêmico, a maioria das pessoas afetadas tem mostrado um aumento substancial nos níveis de tiroglobulina. Entretanto, níveis elevados de tiroglobulina também são observados entre pacientes com bócio esporádico em áreas onde a quantidade que entra de iodo é substancialmente maior. Em ambas as situações, estes valores elevados são correlacionados com o desenvolvimento de bócio próprio. Durante a fase inicial da tireoidite sub-aguda, os níveis de tiroglobulina são notadamente elevados. Níveis persistentemente elevados de hTg no fim de uma cura pela droga antitireoide são considerados preditivos para um reincidência de hipertireoidismo com a retirada da terapia. Determinação de hTg é parte do monitoramento da doença de Graves e seu controle.

2. PRINCÍPIO DO ENSAIO

Este kit é um ensaio imunoradiométrico (IRMA) baseado em tubos adsorvidos com anticorpos monoclonais direcionados aos epítopos distintos da molécula de Tg.


Três anticorpos de captura são adsorvidos na parede interna dos tubos. Tg dos calibradores ou das amostras são capturados por estes anticorpos. A adição do quarto anticorpo marcado com ¹²⁵Iodo completa o sistema, permitindo a formação de uma ponte entre os anticorpos adsorvidos e o anticorpo marcado.

Após a lavagem, a radioatividade restante ligada aos tubos é diretamente relacionada à concentração de Tg nos calibradores ou nas amostras.

A escolha cuidadosa dos quatro anticorpos monoclonais permite alta especificidade e sensibilidade evitando o excesso de especificidade que às vezes é reprovado para os ensaios imunométricos usando somente dois monoclonais.

3. MATERIAL FORNECIDO

- Os reagentes são suficientes para 96 determinações.
- Armazene o kit e os reagentes entre 2-8°C.
- A data de validade de cada reagente é mostrada na etiqueta.

Reagentes	Kit 96 Testes	Reconstituição		
 tubos adsorvidos com três anticorpos monoclonais anti-tiroglobulina humana produzido em camundongo.	2 x 48	Pronto para utilizar		
<table border="1" data-bbox="76 1758 252 1809"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> Marcador Radioativo : anticorpo monoclonal anti- tiroglobulina humana produzida em camundongo. Preservativos: NaN3 (< 0,1 %),	Ab	¹²⁵ I	1 recipiente 27.5 ml ±480 kBq	Pronto para utilizar
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0 Calibrador zero Preservativos: NaN3 (< 0,1 %)	1 recipiente 3 ml	Pronto para utilizar		
[CAL]N Calibradores – N = 7 tiroglobulina humana em tampão fosfato. Preservative: NaN3 (<0.1%)	7 recipientes 1 ml	Pronto para utilizar		

[CONTROL] Controle tiroglobulina humana em tampão fosfato contendo proteínas e estabilizadores proteicos. Preservativos: NaN3 (< 0,1 %)	1 recipiente 1 ml	Pronto para utilizar			
<table border="1" data-bbox="837 235 989 268"> <tr> <td>DIL</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Diluyente solução tampão fosfato com BSA. Preservativos: NaN3 (< 0,1 %)	DIL	BUF	1 recipiente 25 ml	Pronto para utilizar	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="837 347 1085 380"> <tr> <td>RECOVERY</td> <td>SOLN</td> </tr> </table> Recuperação tiroglobulina humana em tampão fosfato contendo proteínas e estabilizadores proteicos. A concentração de tiroglobulina é variável de lote para lote. Por favor, consulte o rótulo da garrafa para a concentração exata. Preservativos: NaN3 (< 0,1 %)	RECOVERY	SOLN	1 recipiente 4.2 ml	Pronto para utilizar	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="837 548 1117 582"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Solução de lavagem (50 x concentrada) TRIS-HCl com detergente. Preservativos: NaN3 (< 0,1 %)	WASH	SOLN	CONC	1 recipiente 20 ml	para 1000ml com água destilada
WASH	SOLN	CONC			

- Controle e Calibradores:** Para o valor exato, consulte ao valor escrito na etiqueta do frasco. O calibrador 1 pode ser usado somente com o método sensível. Os calibradores são calibrados de acordo com a preparação de referência europeu de hTg, MRC457.
- Tubos Adsorvidos:** Os tubos não utilizados devem ser armazenados entre 2-8°C, protegidos da umidade.
- Solução de lavagem** (50 x concentrada): Complete o volume para 1000ml com água destilada. A solução de lavagem diluída é estável por 2 meses entre 2-8°C.

4. MATERIAL REQUERIDO MAS NÃO FORNECIDO

- tubos de teste plásticos
- estantes para tubos
- micropipetas ajustáveis, automáticas com ponteiras descartáveis.
- vortex.
- cilindro graduado.
- bomba de aspiração ou dispositivo de lavagem automatizado.
- cintilador
- água destilada.
- Agitador orbital ajustável para 150-450 rpm

5. AVISOS E PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Para uso diagnóstico In Vitro.

Material radioactivo - Não para administração interna ou externa em seres humanos ou animais.

Este teste apenas deverá ser utilizado por pessoal laboratorial experiente, devendo o manuseamento estar em conformidade com as GLP.

A fim de obter resultados reproduzíveis, as seguintes regras devem ser observadas:

- não misture reagentes de lotes diferentes.
- não use reagentes depois de expirado o prazo de validade
- utilize vidraria completamente limpa.
- utilize água destilada, armazenada em recipientes limpos.
- evite qualquer contaminação entre amostras; para isto, ponteiras descartáveis devem ser usadas para cada amostra e reagente.

Segurança

Apenas para uso em diagnóstico in vitro.

Este kit contém ¹²⁵I (meia-vida: 60 dias), emitindo radiações X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizantes. Este produto radioactivo pode apenas ser transportado e utilizado por pessoal autorizado: a compra, armazenamento, utilização e troca de produtos radioactivos estão sujeitas à legislação nacional vigente. Em nenhum caso, este produto pode ser administrados a seres humanos ou a animais. Toda a manipulação radioactiva deve ser efectuada em local próprio e exclusivo para tal. Deve ser mantido no laboratório, um livro de registo para a recepção e armazenamento de material radioactivo. O equipamento do laboratório e equipamento de vidro que possa ser contaminado com radioactividade, deve ser segregado para evitar contaminação cruzada com diferentes isótopos. Qualquer derrame de material radioactivo deve ser imediatamente limpo, de acordo com os procedimentos de radioproteção. O lixo radioactivo deve ser rejeitado de acordo com a legislação vigente e as regras do laboratório. A

adesão às regras básicas da segurança com radioactividade, fornece a protecção adequada.

Os componentes de sangue humano incluídos neste kit foram testados por métodos aprovados pela legislação europeia e/ou FDA e dados como negativos para o HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e 2. Não existe nenhum método, até agora conhecido, que ofereça total segurança quanto à impossibilidade de transmissão de hepatite, HIV ou outras infecções, por via do sangue humano. Por isso, deve manipular os reagentes, o soro ou o plasma de acordo com as regras locais de segurança, quanto a materiais potencialmente infecciosos.

Todos os produtos de origem animal e seus derivados foram recolhidos de animais saudáveis. Os componentes bovinos, vieram de países sem casos notificados de BSE. No entanto, todos estes componentes devem ser manipulados como sendo potencialmente infecciosos.

Evite o contacto da pele e mucosas com os reagentes (azida sódica como conservante). A azida pode reagir com o chumbo e com o cobre das canalizações e formar compostos explosivos. Rejeitar com abundante quantidade de água corrente para evitar acumulações destes compostos.

Não fume, coma, beba ou aplique cosméticos na área de trabalho. Não pipete com o auxílio da boca. Use vestuário adequado de protecção e luvas.

Para obter mais informações, consulte Folha de dados de segurança do material (MSDS).

6. COLETA DA AMOSTRA

Os soros lipêmicos podem fornecer resultados aberrantes. As amostras podem ser armazenadas entre 2°-8°C por até 24 horas. Para o armazenamento a longo prazo, as amostras devem ser divididas em aliquotas e congeladas a -20°C.

Evite congelar e descongelar as amostras. Após descongelamento e antes do uso, misture amostras por inversão. Embora as interferências dos autoanticorpos anti-tiroglobulinas (TgAb) sejam grandemente eduzidas por uma escolha cuidadosa dos anticorpos monoclonais envolvidos no ensaio, é aconselhável verificar a validade do resultado executando um teste de recuperação como descrito abaixo.

O soro ou plasma EDTA fornecem resultados semelhantes.

$$Y (\text{plasma}) = 0,99x (\text{soro}) + 0,44 \quad r = 0,99 \quad n = 20$$

7. PROCEDIMENTO DO ENSAIO

- Coloque todos os reagentes e amostras à temperatura ambiente (18-25°C) antes do uso.
- Antes do uso, misture as amostras por inversão.
- Para todos os calibradores, uma medida em duplicata é recomendado.

A. PROCEDIMENTO DO ENSAIO SENSÍVEL

1. Prepare os tubos para acomodar calibradores, Soro/Plasmas teste, recuperações e controle em duplicata. Use os tubos não sensibilizados de poliestireno para dosar a atividade total.
2. Pipete **100µl** dos calibradores, das amostras, das amostras diluídas e do controle nos tubos adsorvidos apropriados. Introduza com pipeta diretamente no fundo dos tubos.
3. Adicione **100µl** do diluente em todos estes tubos, exceto nos tubos para a atividade total.
4. Misture delicadamente os tubos no vortex e incube por 2 horas em um agitador orbital ajustado em 150-450 rpm.
5. No fim da incubação, aspire completamente os índices dos tubos. Lave uma vez os tubos com **2 ml** solução de lavagem. **Aspire completamente e remova toda a umidade residual.**
6. Adicione **250 µl** do marcador radioativo (vermelho) a todos os tubos.
7. Incube os tubos por 18-24 horas em temperatura ambiente (18-25°C).
8. Aspire com cuidado a mistura incubada de todos os tubos exceto aquelas da atividade total.
9. Lave os tubos duas vezes com **2 ml** da solução de lavagem em todos os tubos exceto nos tubos totais. **Aspire completamente os índices dos tubos e remova toda a umidade residual.**
10. Conte a radioatividade limitando 1 minuto por tubo em um cintilador. Nós sugerimos controlar o "background" do instrumento antes de contar o ensaio. A fim evitar variações na sensibilidade do sistema, o "background" deve ser reduzido a um mínimo ou ser ajustado corretamente.

ESQUEMA DO ENSAIO COM O PROCEDIMENTO SENSÍVEL

Tubos	Atividade Total	Calibradores	Controle	Amostras	Recuperado
Reagente					
Calibradores	-	100 µl	-	-	-
Controle	-	-	100 µl	-	-
Amostras	-	-	-	100 µl	-
Amostras diluídas*	-	-	-	-	100 µl
Diluente	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
- Misturar no vortex e incubar 2 h em TA (18-25°C) sob agitação (150-450 rpm). - Aspirar - lavar 1 x 2 ml - aspirar					
Marcador	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Incubar: 18 – 24 h em TA (18-25°C) - Aspirar - lavar: 2 x 2 ml - aspirar - Contar					

B. PROCEDIMENTO DO ENSAIO NÃO -SENSÍVEL

1. Prepare os tubos para acomodar calibradores, Soro/Plasmas teste, recuperações e controle em duplicata. Use os tubos não sensibilizados de poliestireno para dosar a atividade total
2. Pipete **50µl** dos calibradores, das amostras, amostras diluídas e do controle nos tubos adsorvidos apropriados. Introduza com pipeta diretamente no fundo dos tubos. **Não use o calibrador 1.**
3. Adicione **200µl** do diluente em todos estes tubos, exceto nos tubos para a atividade total
4. Misture delicadamente os tubos no vortex e incube por 2 horas em um agitador orbital ajustado em 150-450 rpm.
5. No fim da incubação, aspire completamente os índices dos tubos. Lave uma vez os tubos com **2 ml** da solução de lavagem. **Aspire completamente e remova toda a umidade residual.**
6. Adicione **250µl** do marcador radioativo (vermelho) em todos os tubos.
7. Incube os tubos por 18-24 horas em temperatura ambiente (18-25°C).
8. Aspire com cuidado a mistura incubada de todos os tubos exceto aqueles da atividade total.
9. Lave os tubos duas vezes com **2 ml** da solução de lavagem em todos os tubos exceto nos tubos totais. **Aspire completamente os índices dos tubos e remova toda a umidade residual.**
10. Conte a radioatividade limitando 1 minuto por tubo em um cintilador. Nós sugerimos controlar o "background" do instrumento antes de contar o ensaio. A fim evitar variações na sensibilidade do sistema, o "background" deve ser reduzido a um mínimo ou ser ajustado corretamente

ESQUEMA DO ENSAIO COM PROCEDIMENTO NÃO SENSÍVEL

Tubos	Atividade Total	Calibradores	Controle	Amostras	Recuperação
Reagente					
Calibradores	-	50 µl	-	-	-
Controle	-	-	50 µl	-	-
Amostras	-	-	-	50 µl	-
Amostras diluídas*	-	-	-	-	50 µl
Diluente	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
Misturar no vortex e incubar 2 h em TA (18-25°C) sob agitação (150-450 rpm). - Aspirar - lavar 1 x 2 ml - aspirar					
Marcador	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
Incubar: 18 – 24 h em TA (18-25°C) - Aspirar - lavar: 2 x 2 ml - aspirar - Contar					

C. TESTE DE RECUPERAÇÃO

1. **Preparação das amostras da recuperação (amostras diluídas*).**

Diluir o conteúdo dos frascos de recuperação na proporção 1:2, por exemplo para 125µl da amostra (75 µl com o método não sensível) + 125 µl da solução de recuperação (75µl do método não sensível). A concentração de tireoglobulina na solução de recuperação varia de lote para lote. Por favor, consulte o rótulo da garrafa para a concentração exata. As amostras assim preparadas são "amostras diluídas".

2. Ensaio das amostras diluídas e não diluídas

Na mesma série, a tiroglobulina medida em ambas não diluídas e amostras diluídas.

3. Cálculo .

A percentagem de recuperação é calculada como segue:

$$\text{Recuperação(\%)} = \frac{\text{Valor da amostra diluída}}{(\text{Valor da amostra não diluída} + \text{concentração da solução de recuperação}) / 2} \times 100$$

Se não houver nenhuma interferência, a recuperação estará perto de 100 %. Se a recuperação for abaixo de 80 %, uma interferência de TgAb pode ser suspeita e deve ser verificada medindo TgAb na amostra. Se a recuperação for mais elevada que 120 %, a interferência observada não é devido a TgAb.

8. CÁLCULO DOS RESULTADOS

Desenhe a curva de calibração no gráfico tipo log/lin traçando o B/T (%) obtido para cada calibrador (eixo y) contra a concentração relativa (eixo x). Calcule o B/T (%) de cada amostra e leia a concentração interpolando na curva de calibração.

EXEMPLO DO CÁLCULO

Os valores relatados abaixo devem ser considerados como um exemplo e não podem ser usados no lugar dos dados experimentais

Descrição	Média cpm.	B/T (%)	hTg conc. (ng/ml)
Atividade Total (T)	247160	-	-
CAL 0	110	0,00	0
CAL 1	297	0,08	0,75
CAL 2	525	0,17	1,5
CAL 3	1351	0,50	5
CAL 4	4022	1,58	15
CAL 5	12023	4,82	50
CAL 6	45802	18,49	200
CAL 7	110743	44,76	600
CONTROL	6890	3,1	27,0

CONTROLO INTERNO DE QUALIDADE

- Se os resultados obtidos para o Controlo 1 e/ou 2 não se situarem dentro do intervalo especificado no rótulo do recipiente, os resultados não podem ser utilizados sem haver uma explicação satisfatória para a discrepância verificada.
- Se tal for desejável, cada laboratório pode fazer os seus pools de amostras de controlo, que devem ser mantidas na forma de alíquotas congeladas. Não efectue mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento.
- Os critérios de aceitação da diferença entre os resultados duplos das amostras devem basear-se nas Boas Práticas Laboratório.

9. VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório determine seu próprio intervalo de referência. Valores relatados abaixo são apenas indicativos.

O valor normal da Tiroglobulina foi determinado em 99 amostras e os níveis encontrados forma menores que **50 ng/ml**.

10. DESEMPENHO DO ENSAIO

ESPECIFICIDADE

As amostras foram processadas em ensaios que incluíram uma diluição de um para um com o Thyroglobulin Recovery. As percentagens de recuperação foram calculadas. Essa avaliação foi feita com 100 amostras sem autoanticorpos antitireoglobulina (TgAb negativo) e 100 amostras contendo vários níveis de autoanticorpos antitireoglobulina (TgAb positivo) variando de 50 a mais de 5.000 UI / ml.

As percentagens médias de recuperação de "TgAb negativo" e "TgAb positivo" são 91 e 85%, respectivamente. Portanto, nenhuma reação cruzada é observada com TgAb presente no soro humano.

No entanto, um teste de recuperação é recomendado para cada amostra estudada para validar os resultados, uma vez que os TgAb variam de paciente em termos de qualidade e quantidade (cfr. Seção 7.C).

SENSIBILIDADE

Sensibilidade analítica

O LoB (limite do branco) foi calculado medindo o branco várias vezes e foi calculado como a média + 2 desvios padrão da distribuição dos valores de teste; o LoB foi calculado em 0,18 ng / ml.

O LoD (limite de detecção) foi calculado como o LoB + 1,645 desvios padrão de uma amostra de baixa concentração testada em 11 execuções diferentes. O LoD foi calculado em 0,42 ng / ml.

O LoQ (limite de quantificação) foi calculado testando 5 amostras de valores baixos, 11 vezes. O LoQ foi calculado em 0,69 ng / ml.

PRECISÃO

A precisão foi avaliada em cima da variabilidade no ensaio e entre ensaios, em diferentes concentrações.

No ensaio

Soro	Média ± (ng/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	9,4 ±	0,2	2,4	20
2	51,9 ±	0,8	1,6	20
3	112,8 ±	1,7	1,5	20

Entre Ensaios

Soro	Média ± (ng/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	9,2 ±	0,2	2,2	9
2	51,6 ±	1,7	3,3	9
3	215,5 ±	4,8	2,2	9

ACURÁCIA

A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação analítica e de paralelismo.

Recuperação analítica

Amostra	Esperado (ng/ml)	Medido (ng/ml)	Recuperação (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
	327,8	327,6	99,9
2	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
	127	113,8	89,6
	327	312,5	95,6

Teste Paralelismo

Soros com alta concentração foram testados em diferentes diluições com o calibrador Zero

Diluição	Esperado (ng/ml)	Mensurado (ng/ml)	Recuperação (%)
A1 sem diluir	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
A2 sem diluir	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

EFEITO GANCHO

As amostras diluídas de Tiroglobulina Humana purificada até 100.000 ng/ml deram valores mais altos do que o último calibrador nos dois procedimentos.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΑ ΕΥΑΙΣΘΗΤΗ ΜΕΘΟΔΟΣ R-CM-100 - 96 προσδιορισμοί

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO

1. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ


Η θυρεοσφαιρίνη (hTg) είναι το κύριο στοιχείο του κολλοειδούς στα θυλάκια του θυρεοειδούς. Η g είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 660000. Η Tg είναι ειδική για τα κύτταρα του θυρεοειδούς, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσής της στο αίμα είναι επομένως μεγάλη σπουδαιότητα για τη διάγνωση παθήσεων του θυρεοειδούς. Σε περιοχές ενδημικής βρογχοκίλης, η πλειοψηφία των ατόμων που έπασχαν είχαν κατά πολύ υψηλότερα επίπεδα θυρεοσφαιρίνης από ότι μη πάσχοντα άτομα που υποβλήθηκαν σε έλεγχο. Ωστόσο, αυξημένα επίπεδα θυρεοσφαιρίνης παρατηρούνται επίσης μεταξύ ασθενών με σποραδική βρογχοκίλη σε περιοχή όπου η πρόσληψη ιωδίου είναι κατά πολύ υψηλότερη. Και στις δύο περιπτώσεις, αυτές οι αυξημένες τιμές συσχετίζονται με την ανάπτυξη της ίδιας της βρογχοκίλης. Στην αρχική φάση της υποξείας θυρεοειδίτιδας, τα επίπεδα της θυρεοσφαιρίνης είναι κατά πολύ αυξημένα. Εμμένοντα υψηλά επίπεδα hTg κατά το τέλος μιας θεραπείας με αντιθυρεοειδικό φάρμακο θεωρούνται ως μέσα πρόγνωσης για υποτροπή του υπερθυρεοειδισμού με τη διακοπή της θεραπείας. Ο προσδιορισμός της hTg αποτελεί επομένως κομμάτι της παρακολούθησης της νόσου Graves και της αντιμετώπισής της.

2. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Αυτό το kit προσδιορισμών είναι μία ανοσοραδιομετρική μέθοδος (IRMA), η οποία βασίζεται σε σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικά αντισώματα που κατευθύνονται σε διακριτά επίτοπα του μορίου της Tg. Τρία αντισώματα δέσμευσης επιστρώνονται στο εσωτερικό τοίχωμα των σωληναρίων. Η Tg των βαθμονομητών ή των δειγμάτων δεσμεύεται από αυτά τα αντισώματα. Προσθήκη του 4^ο αντισώματος που είναι σημασμένο με ¹²⁵Iώδιο ολοκληρώνει το σύστημα, επιτρέποντας το σχηματισμό μιας γέφυρας ανάμεσα στα επιστρωμένα αντισώματα και το σημασμένο αντίσωμα. Μετά την πλύση, η υπολειπόμενη ραδιενέργεια που δεσμεύεται στα σωληνάρια σχετίζεται άμεσα με τη συγκέντρωση της Tg στους βαθμονομητές ή τα δείγματα. Η προσεκτική επιλογή των 4 μονοκλωνικών αντισωμάτων επιτρέπει υψηλή ειδικότητα και υψηλή ευαισθησία και αποτρέπει την υπερβολική ειδικότητα που αποδίδεται μερικές φορές σε ανοσομετρικούς προσδιορισμούς με δύο μονοκλωνικά μόνο.

3. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

- Τα αντιδραστήρια επαρκούν για 96 προσδιορισμούς.
- Φυλάσσετε το kit και τα αντιδραστήρια στους 2-8° C.
- Η ημερομηνία λήξης κάθε αντιδραστήριου αναγράφεται στην ετικέτα.

Αντιδραστήρια	Kit 96 εξετάσεων	Ανασύσταση		
	2 x 48	Έτοιμο για χρήση		
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> <p>Ραδιενεργός ιχνηθέτης : μονοκλωνικού αντισώματος ποντικού αντι-ανθρώπινης θυρεοσφαιρίνης ημασμένου. Συντηρητικά: NaN₃ (< 0,1%),</p>	Ab	¹²⁵ I	1 φιαλίδιο 27.5 ml ±480 kBq	Έτοιμο για χρήση
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0] Βαθμονομητής μηδέν Συντηρητικά: NaN ₃ (< 0,1%)	1 φιαλίδιο 3 ml	Έτοιμο για χρήση		

[CAL]N] Βαθμονομητής - N = 7 ανθρώπινης θυρεοσφαιρίνης σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. Συντηρητικά: NaN ₃ (< 0,1%)	7 φιαλίδια 1 ml	Έτοιμο για χρήση			
[CONTROL] Ορός έλεγχου ανθρώπινης θυρεοσφαιρίνης σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει πρωτεΐνες και σταθεροποιητές πρωτεϊνών. Συντηρητικά: NaN ₃ (< 0,1%)	1 φιαλίδιο 1 ml	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1"><tr><td>DIL</td><td>BUF</td></tr></table> <p>Αραιωτικό ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών με BSA. Συντηρητικά: NaN₃ (< 0,1%)</p>	DIL	BUF	1 φιαλίδιο 25 ml	Έτοιμο για χρήση	
DIL	BUF				
<table border="1"><tr><td>RECOVERY</td><td>SOLN</td></tr></table> <p>Ανάκτηση ανθρώπινης θυρεοσφαιρίνης σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει πρωτεΐνες και σταθεροποιητές πρωτεϊνών. συγκέντρωση του διαλύματος ανάκτησης. Συντηρητικά: NaN₃ (< 0,1%)</p>	RECOVERY	SOLN	1 φιαλίδιο 4.2 ml	Έτοιμο για χρήση	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> <p>Διάλυμα πλύσης (συμπυκνωμένο 50 x) TRIS-HCl με απορρυπαντικό Συντηρητικά: NaN₃ (< 0,1%)</p>	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 20 ml	Συμπληρώστε με απεσταγμένο νερό μέχρι τα 1000ml.
WASH	SOLN	CONC			

1. Ορός έλεγχου και Βαθμονομητές : Για την ακριβή τιμή, ανατρέξτε στην τιμή που αναφέρεται στην ετικέτα του φιαλιδίου.

Ο βαθμονομητής 1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο με την ευαισθητή μέθοδο.

Οι διακριβωτές είναι βαθμολογημένοι ενάντια στην ευρωπαϊκή προετοιμασία MRC457 αναφοράς hTg.

2. Επιστρωμένα σωληνάρια: Τα μη χρησιμοποιημένα σωληνάρια πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C, προστατευμένα από την υγρασία.

3. Διάλυμα πλύσης (συμπυκνωμένο 50 x): Συμπληρώστε με απεσταγμένο νερό μέχρι τα 1000ml. Το αραιωμένο διάλυμα πλύσης είναι σταθερό για 2 μήνες στους 2-8° C.

4. ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Πλαστικά δοκιμαστικά σωληνάρια
- Βάσεις δοκιμαστικών σωληναρίων.
- Ρυθμιζόμενες, αυτόματες μικροπιπέτες με αναλώσιμα ρύγχη.
- Αναμείκτης στροβιλισμού (τύπου vortex)
- Διαβαθμισμένος κύλινδρος.
- Αντλία αναρρόφησης ή αυτοματοποιημένη συσκευή πλύσης.
- Μετρητής σπινθηρισμών γ ακτινοβολίας.
- Απεσταγμένο νερό.
- Αναδευτήρας τροχιακής κίνησης ρυθμιζόμενος σε 150-450 rpm.

5. ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΧΡΗΣΤΕΣ

Για διαγνωστική χρήση in vitro.

Μόνον έμπειρο προσωπικό εργαστηρίων θα πρέπει να χρησιμοποιεί αυτήν την εξέταση και ο χειρισμός θα πρέπει να είναι σε συμφωνία με την Ορθή Εργαστηριακή Πρακτική (GLP).

Ραδιενεργό υλικό – Όχι για εσωτερική ή εξωτερική χρήση σε ανθρώπους ή ζώα.

Προκειμένου να πάρετε αναπαράγωγα αποτελέσματα, θα πρέπει να τηρηθούν οι ακόλουθοι κανόνες:

- Μην αναμιγνύετε αντιδραστήρια διαφορετικών παρτίδων.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης τους.
- Χρησιμοποιείτε πολύ καθαρά γυάλινα δοχεία.
- Χρησιμοποιείτε απεσταγμένο νερό, αποθηκευμένο σε καθαρούς περιέκτες.
- Αποφύγετε τη μόλυνση από δείγμα σε δείγμα. Για το σκοπό αυτό, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για κάθε δείγμα και αντιδραστήριο ρύγχη μιας χρήσης.

Ασφαλείας

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro.

Το kit αυτό περιέχει το ^{125}I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία X (28 keV) και γ (35.5 keV).

Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρωπίνους ή ζώα. Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσοτόπων. Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφαλείας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η ήρηση των βασικών κανόνων ασφαλείας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία. Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HbsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφαλείας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσσώρευσης αζιδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στο Φύλλο δεδομένων ασφαλείας υλικού (MSDS).

6. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Λιπαιμικοί οροί μπορεί να δώσουν ανώμαλα αποτελέσματα. Τα δείγματα μπορούν να φυλαχτούν στους 2–8° C έως 24 ώρες. Για φύλαξη μεγαλύτερης διάρκειας, τα δείγματα πρέπει να χωρίζονται σε κλάσματα και να καταψύχονται στους -20° C. Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη. Μετά την απόψυξη και πριν από τη χρήση, αναμείξτε τα δείγματα με αναστροφή.

Παρότι οι επιδράσεις από αυτοαντισώματα αντι-θυρεοσφαιρίνης (TgAb) έχουν μειωθεί κατά πολύ με προσεκτική επιλογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται στον προσδιορισμό, συνιστάται η επαλήθευση της εγκυρότητας του αποτελέσματος θυρεοσφαιρίνης με την εκτέλεση μιας δοκιμασίας ανάκτησης όπως περιγράφεται πιο κάτω.

Ορός ή το πλάσμα EDTA παρέχει παρόμοια αποτελέσματα.

$$Y (\text{πλάσμα}) = 0,99x (\text{ορός}) + 0,44 \quad r = 0,99 \quad n = 20$$

7. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΘΟΔΟΥ :

- Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) πριν από τη χρήση.
- Αναμείξτε τα δείγματα με απαλή ανάδευση πριν από τη χρήση.
- Για όλους τους βαθμονομητές, συνιστάται διπλή μέτρηση.

A. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

1. Προετοιμάστε σωληνάρια για τους βαθμονομητές, ορούς/πλάσματα της εξέτασης, δείγματα ανάκτησης και ορούς ελέγχου εις διπλούν. Χρησιμοποιήστε κοινά σωληνάρια από πολυστυρένιο για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total").
2. Διανείμετε με πιπέτα **100 μl** από τους βαθμονομητές, τα δείγματα, τα εμβολιασμένα δείγματα και τον ορό ελέγχου στα κατάλληλα

επιστρωμένα σωληνάρια. Διανείμετε με την πιπέτα κατευθείαν στον πυθμένα των σωληναρίων.

3. Προσθέστε **100 μl** αραιωτικού σε όλα αυτά τα σωληνάρια, εκτός από τα σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total").
4. Αναμείξτε απαλά τα σωληνάρια σε vortex και επωάστε επί 2 ώρες σε έναν αναδευτήρα τροχιακής κίνησης ρυθμισμένο στις 150-450 rpm.
5. Στο τέλος της επώασης, αναρροφήστε τελείως το περιεχόμενο των σωληναρίων. Πλύνετε μία φορά τα σωληνάρια με **2 ml** διαλύματος πλύσης. **Αναρροφήστε τελείως και απομακρύνετε κάθε υπόλειμμα υγρασίας.**
6. Προσθέστε **250 μl** ραδιενεργού ιχνηθέτη (κόκκινου χρώματος) σε όλα τα σωληνάρια.
7. Επωάστε τα σωληνάρια επί 18-24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C)
8. Αναρροφήστε προσεκτικά το μείγμα της επώασης από όλα τα σωληνάρια εκτός από εκείνα για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total").
9. Πλύνετε δύο φορές όλα τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total"). **Αναρροφήστε τελείως το περιεχόμενο και απομακρύνετε κάθε υπόλειμμα υγρασίας.**

Μετρήστε τη ραδιενέργεια που έχει δεσμευτεί στα σωληνάρια επί 1 λεπτό σε μετρητή γ ακτινοβολίας. Προτείνουμε να ελέγξετε το υπόβαθρο του οργάνου πριν μετρήσετε τον προσδιορισμό. Προκειμένου να αποφύγετε αποκλίσεις στην ευαισθησία του συστήματος, το υπόβαθρο πρέπει να μειωθεί στο ελάχιστο ή να ρυθμιστεί κατάλληλα.

ΣΧΗΜΑ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Σωληνάρια	Μέτρηση ιχνηθέτη ^{125}I (total)	Βαθμονομητές	Ορός ελέγχου	Δείγματα	Ανάκτηση
Αντιδραστήριο					
Βαθμονομητές	-	100 μl	-	-	-
Ορός ελέγχου	-	-	100 μl	-	-
Δείγματα εμβολιασμένα	-	-	-	100 μl	-
Δείγματα* Αραιωτικό	-	-	-	-	100 μl
Δείγματα* Αραιωτικό	-	100 μl	100 μl	100 μl	100 μl
- Αναμείξτε σε vortex και επωάστε επί 2 ώρες, σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C), σε έναν αναδευτήρα τροχιακής κίνησης ρυθμισμένο στις 150-450 rpm. - Αναρροφήστε - πλύνετε 1 x 2 ml - Αναρροφήστε					
Ιχνηθέτης	250 μl	250 μl	250 μl	250 μl	250 μl
- Επωάστε: 18 - 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) - Αναρροφήστε - πλύνετε: 2 x 2 ml - Αναρροφήστε - Μετρήστε					

B. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΗ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

1. Προετοιμάστε σωληνάρια για τους βαθμονομητές, ορούς/πλάσματα της εξέτασης, δείγματα ανάκτησης και ορούς ελέγχου εις διπλούν. Χρησιμοποιήστε κοινά σωληνάρια από πολυστυρένιο για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total").
2. Διανείμετε με πιπέτα **50 μl** από τους βαθμονομητές, τα δείγματα, τα εμβολιασμένα δείγματα και τον ορό ελέγχου στα κατάλληλα επιστρωμένα σωληνάρια. Διανείμετε με την πιπέτα κατευθείαν στον πυθμένα των σωληναρίων. **Μη χρησιμοποιείτε το βαθμονομητή 1.**
3. Προσθέστε **200 μl** αραιωτικού σε όλα αυτά τα σωληνάρια, εκτός από τα σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total").
4. Αναμείξτε απαλά τα σωληνάρια σε vortex και επωάστε επί 2 ώρες σε έναν αναδευτήρα τροχιακής κίνησης ρυθμισμένο στις 150-450 rpm.
5. Στο τέλος της επώασης, αναρροφήστε τελείως το περιεχόμενο των σωληναρίων. Πλύνετε μία φορά τα σωληνάρια με **2 ml** διαλύματος πλύσης. **Αναρροφήστε τελείως και απομακρύνετε κάθε υπόλειμμα υγρασίας.**
6. Προσθέστε **250 μl** ραδιενεργού ιχνηθέτη (κόκκινου χρώματος) σε όλα τα σωληνάρια.
7. Επωάστε τα σωληνάρια επί 18-24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C).

- Αναρροφήστε προσεκτικά το μείγμα της επώασης από όλα τα σωληνάρια εκτός από εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total").
- Πλύνετε δύο φορές όλα τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλήσης με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total"). **Αναρροφήστε τελείως το περιεχόμενο και απομακρύνετε κάθε υπόλειμμα υγρασίας.**
- Μετρήστε τη ραδιενέργεια που έχει δεσμευτεί στα σωληνάρια επί 1 λεπτό σε μετρητή γ ακτινοβολίας. Προτείνουμε να ελέγξετε το υπόβαθρο του οργάνου πριν μετρήσετε τον προσδιορισμό. Προκειμένου να αποφύγετε αποκλίσεις στην ευαισθησία του συστήματος, το υπόβαθρο πρέπει να μειωθεί στο ελάχιστο ή να ρυθμιστεί κατάλληλα.

ΣΧΗΜΑ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΜΗ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Σωληνάρια	Μέτρηση ιχνηθέτη ¹²⁵ I (total)	Βαθμονομητές	Ορός ελέγχου	Δείγματα	Ανάκτηση
Αντιδραστήριο					
Βαθμονομητές	-	50 μl	-	-	-
Ορός ελέγχου	-	-	50 μl	-	-
Δείγματα	-	-	-	50 μl	-
εμβολιασμένα δείγματα*	-	-	-	-	50 μl
Αραιωτικό	-	200 μl	200 μl	200 μl	200 μl
- Αναμείξτε σε vortex και επώαστε επί 2 ώρες, σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C), σε έναν αναδευτήρα τροχιακής κίνησης ρυθμισμένο στις 150-450 rpm. - Αναρροφήστε - πλύνετε 1 x 2 ml - Αναρροφήστε					
Ιχνηθέτης	250 μl	250 μl	250 μl	250 μl	250 μl
- Επώαστε: 18 - 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) - Αναρροφήστε - πλύνετε: 2 x 2 ml - Αναρροφήστε - Μετρήστε					

Γ. ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

1. Προετοιμασία των δειγμάτων ανάκτησης (εμβολιασμένα δείγματα*).

Αραιώστε σε αναλογία 1/2 τα δείγματα με το περιεχόμενο του φιαλιδίου ανάκτησης, για παράδειγμα **125 μl** δείγματος (**75 μl** με τη μη ευαίσθητη μέθοδο) + **125 μl** (**75 μl** με τη μη ευαίσθητη μέθοδο) διαλύματος ανάκτησης. Η συγκέντρωση θυρεοσφαιρίνης στο διάλυμα ανάκτησης ποικίλλει από παρτίδα σε παρτίδα. Ανατρέξτε στην ετικέτα της φιάλης για την ακριβή συγκέντρωση.

*Τα δείγματα που προετοιμάζονται έτσι είναι τα "εμβολιασμένα δείγματα".

2. Προσδιορισμός των μη εμβολιασμένων και των εμβολιασμένων δειγμάτων.

Στην ίδια σειρά, μετρήστε τη θυρεοσφαιρίνη **τόσο** στα μη εμβολιασμένα **όσο** και στα εμβολιασμένα δείγματα.

3. Υπολογισμός.

Το επί τοις εκατό ποσοστό της ανάκτησης υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Ανάκτηση (\%)} = \frac{\text{Τιμή του εμβολιασμένου δείγματος}}{\text{(Τιμή του μη εμβολιασμένου δείγματος + συγκέντρωση του διαλύματος ανάκτησης)/2}} \times 100$$

Αν δεν υπάρχει παρεμβολή, η ανάκτηση θα είναι κοντά στο 100%. Αν η ανάκτηση είναι μικρότερη από 80%, μπορούμε να υποθέσουμε ότι υπάρχει μια παρεμβολή των TgAb και θα πρέπει να επαληθευτεί μετρώντας τα TgAb στο δείγμα. Αν η ανάκτηση είναι μεγαλύτερη από 120%, η παρατηρούμενη παρεμβολή δεν οφείλεται στα TgAb.

8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Σχεδιάστε την καμπύλη βαθμονόμησης σε χαρτί λογαριθμικών/γραμμικών γραφημάτων αποτυπώνοντας το B/T (%) που υπολογίζεται για κάθε βαθμονομητή (άξονας των y) έναντι της σχετικής συγκέντρωσης (άξονας των x). Υπολογίστε το B/T (%) κάθε δείγματος και διαβάστε τη συγκέντρωση με αναγωγή στην καμπύλη βαθμονόμησης.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ

Οι τιμές που αναφέρονται πιο κάτω πρέπει να θεωρηθούν ως παράδειγμα και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντί πειραματικών δεδομένων

Περιγραφή	Μέση τιμή cpm.	B/T (%)	Συγκ. hTg (ng/ml)
Μέτρηση ιχνηθέτη ¹²⁵ I (T)	247160	-	-
CAL 0	110	0,00	0
CAL 1	297	0,08	0,75
CAL 2	525	0,17	1,5
CAL 3	1351	0,50	5
CAL 4	4022	1,58	15
CAL 5	12023	4,82	50
CAL 6	45802	18,49	200
CAL 7	110743	44,76	600
ΟΡΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ	6890	3,1	27,0

ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (ools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές

9. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Συνιστάται κάθε εργαστήριο να προσδιορίσει το δικό του πεδίο τιμών αναφοράς. Οι τιμές που αναφέρονται πιο κάτω είναι απλώς ενδεικτικές.

Οι φυσιολογικές τιμές για τη θυρεοσφαιρίνη έχουν προσδιοριστεί σε 99 δείγματα και τα επίπεδα της θυρεοσφαιρίνης βρέθηκαν να είναι κάτω από **50 ng/ml**.

10. ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία σε προσδιορισμούς που περιελάμβαναν αραιώση ένα προς ένα με την αποκατάσταση θυρεοσφαιρίνης. Υπολογίστηκαν τα ποσοστά ανάκτησης. Αυτή η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε με 100 δείγματα που δεν περιείχαν αυτο-αντισώματα αντι-θυρεοσφαιρίνης (αρνητικά TgAb) και 100 δείγματα που περιείχαν διάφορα επίπεδα αυτο-αντισωμάτων αντι-θυρεοσφαιρίνης (θετικά TgAb) κυμαινόμενα από 50 έως περισσότερα από 5.000 IU / ml.

Τα μέσα ποσοστά ανάκτησης των "αρνητικών TgAb" και "θετικών TgAb" είναι 91 και 85%, αντίστοιχα. Επομένως, δεν παρατηρείται διασταυρούμενη αντίδραση με το TgAb να υπάρχει στον ανθρώπινο ορό.

Ωστόσο, συνιστάται μια δοκιμή ανάκαμψης για κάθε δείγμα που μελετήθηκε για την επικύρωση των αποτελεσμάτων, καθώς το TgAb διαφέρει από τους ασθενείς ως προς την ποιότητα και την ποσότητα (πρβλ. Ενότητα 7.Γ).

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Αναλυτική ευαισθησία

Το LoB (όριο τυφλού) υπολογίστηκε με μέτρηση του τυφλού αρκετές φορές και υπολογίστηκε ως η μέση + 2 τυπική απόκλιση της κατανομής των τιμών δοκιμής. το LoB υπολογίστηκε να είναι 0,18 ng / ml. Το LoD (όριο ανίχνευσης) υπολογίστηκε ως οι τυπικές αποκλίσεις LoB + 1.645 ενός δείγματος χαμηλής συγκέντρωσης που δοκιμάστηκε σε 11 διαφορετικές δοκιμές. Το LoD υπολογίστηκε να είναι 0,42 ng / ml. Το LoQ (όριο ποσοτικού προσδιορισμού) υπολογίστηκε δοκιμάζοντας 5 δείγματα χαμηλών τιμών, 11 φορές. Το LoQ υπολογίστηκε να είναι 0,69 ng / ml.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια αξιολογήθηκε με βάση τη μεταβλητότητα για τον ίδιο προσδιορισμό και μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αναλυόμενης ουσίας.

Για τον ίδιο προσδιορισμό

Ορός	Μέση τιμή (ng/ml)	±	Τυπ. απόκλιση	Σ.Δ. (%)	N
1	9,4	±	0,2	2,4	20
2	51,9	±	0,8	1,6	20
3	112,8	±	1,7	1,5	20

Μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών

Ορός	Μέση τιμή (ng/ml)	±	Τυπ. απόκλιση	Σ.Δ. (%)	N
1	9,2	±	0,2	2,2	9
2	51,6	±	1,7	3,3	9
3	215,5	±	4,8	2,2	9

ΟΡΘΟΤΗΤΑ

Η ορθότητα της μεθόδου έχει αξιολογηθεί με δοκιμασίες αναλυτική ανάκτησης και παραλληλισμού.

Αναλυτική ανάκαμψη

Δείγμα	Αναμενόμενο (ng/ml)	Μετρημένο (ng/ml)	Ανάκτηση (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
2	327,8	327,6	99,9
	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
127	113,8	89,6	
327	312,5	95,6	

Δοκιμασία παραλληλισμού

Οροί με υψηλή συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας εξετάστηκαν σε διαφορετικές αραιώσεις με το μηδενικό βαθμονομητή.

Αραίωση	Αναμενόμενη συγκέντρωση (ng/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (ng/ml)	Ανάκτηση (%)
S1 μη αραιωμένο	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
S2 μη αραιωμένο	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΑΓΚΙΣΤΡΟΥ (HOOK)

Δείγματα που εμβολιάστηκαν με κεκαθαρμένη ανθρώπινη θυρεοσφαιρίνη έως 100.000 ng/ml έδωσαν τιμές υψηλότερες από τον τελευταίο βαθμονομητή και στις δύο διαδικασίες.

POLSKI

TEST RADIOIMMUNOMETRYCZNY DO ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA METODĄ CZUŁĄ TYREOGLOBULINY W LUDZKIEJ SUROWICY I OSOCZU. R-CM-100 - 96 oznaczeń

WYŁĄCZNIE DO STOSOWANIA W DIAGNOSTYCE IN VITRO

1. ZASTOSOWANIE KLINICZNE

Tyreoglobulina (hTg) jest głównym składnikiem koloidu znajdującego się w pęcherzykach tarczycy. hTg jest glikoproteiną o ciężarze cząsteczkowym 660 kda. Ponieważ hTg jest swoista dla komórki tarczycy, dlatego oznaczanie jej stężenia we krwi ma duże znaczenie w diagnozowaniu chorób tarczycy.

Na obszarach występowania wola endemicznego, u większości osób dotkniętych tym schorzeniem zaobserwowano stężenia tyreoglobuliny znacząco wyższe niż w kontrolach normalnych. Niemniej, podwyższone stężenia tyreoglobuliny występują również wśród pacjentów z wolem sporadycznym na obszarach, na których pobór jodu jest znacznie wyższy. W obu sytuacjach takie podwyższone wartości są skorelowane z samym rozwojem wola.

W początkowej fazie podostrego zapalenia tarczycy, stężenia tyreoglobuliny są wyraźnie podwyższone. Utrzymujące się w końcowym etapie leczenia lekami przeciwtarczycowymi wysokie stężenia hTg wskazują na możliwość nawrotu nadczynności tarczycy po zaprzestaniu leczenia. Oznaczanie stężenia hTg jest zatem elementem monitorowania choroby Graves-Basedowa oraz jej terapii.

2. ZASADA DZIAŁANIA TESTU


Niniejszy zestaw testowy jest testem immunoradiometrycznym (IRMA) z wykorzystaniem próbek opłaszczonych przeciwciałami monoklonalnymi skierowanymi przeciw różnym epitopom cząsteczki Tg.

Trzy przeciwciała wychwytyjące przytwierdzone są do wewnętrznej powierzchni próbek. Tg zawarta w kalibratorach lub w próbkach zostaje wychwycona przez te przeciwciała. Dodanie czwartego przeciwciała znakowanego ¹²⁵I uzupełnia system, umożliwiając powstanie mostu pomiędzy przeciwciałami opłaszczonymi a przeciwciałem znakowanym.

Po przepłukaniu, radioaktywność próbek jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia Tg w standardach lub próbkach. Staranny dobór czterech przeciwciał monoklonalnych zapewnia wysoką swoistość i wysoką czułość oraz pozwala uniknąć nadmiernej swoistości, którą czasami przypisuje się testom immunometrycznym, wykorzystującym tylko dwa przeciwciała monoklonalne.

3. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE W ZESTAWIE

- Ilość odczynników wystarcza na 96 oznaczeń.
- Zestaw i odczynniki przechowywać w temperaturze 2-8°C.
- Data ważności każdego odczynnika podana jest na etykiecie.

Odczynniki	Zestaw 96 oznaczeń	Rekonstytucja		
 próbek opłaszczonych trzema mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciw tyreoglobulinie ludzkiej.	2 x 48	Gotowe do zastosowania		
<table border="1" data-bbox="76 1836 252 1892"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> Znacznik Radioaktywny : mysiego przeciwciała monoklonalnego przeciw ludzkiej tyreoglobulinie . Środki konserwujące: NaN3 (< 0,1 %),	Ab	¹²⁵ I	1 fiolka 27.5 ml ±480 kBq	Gotowe do zastosowania
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0 Kalibrator zero Środki konserwujące: NaN3 (< 0,1 %)	1 fiolka 3 ml	Gotowe do zastosowania		

[CAL]N Kalibratory – N = 7 tyreoglobuliny ludzkiej w buforze fosforanowym. Środki konserwujące: NaN3 (< 0,1 %)	7 fiolek 1 ml	Gotowe do zastosowania			
[CONTROL] Kontrola tyreoglobuliny ludzkiej w buforze fosforanowym zawierającym białka i stabilizatory białek. Środki konserwujące: NaN3 (< 0,1 %)	1 fiolka 1 ml	Gotowe do zastosowania			
<table border="1" data-bbox="837 436 989 470"> <tr> <td>DIL</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Rozcieńczalnik roztworu buforu fosforanowego z albuminą surowicy wołowej. Środki konserwujące: NaN3 (< 0,1 %)	DIL	BUF	1 fiolka 25 ml	Gotowe do zastosowania	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="837 571 1085 604"> <tr> <td>RECOVERY</td> <td>SOLN</td> </tr> </table> Odzysk tyreoglobuliny ludzkiej w buforze fosforanowym zawierającym białka i stabilizatory białek. Stężenie tyreoglobuliny różni się w zależności od partii. Dokładne stężenie znajduje się na etykiecie butelki. Środki konserwujące: NaN3 (< 0,1 %)	RECOVERY	SOLN	1 fiolka 4.2 ml	Gotowe do zastosowania	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="837 750 1117 784"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Roztwór odmywający (50-krotnie stężony): bufora Tris-HCl z detergentem. Środki konserwujące: NaN3 (< 0,1 %)	WASH	SOLN	CONC	1 fiolka 20 ml	1000 ml wodą destylowaną
WASH	SOLN	CONC			

- Kontrola i Kalibratory: Dokładną wartość należy uzyskać z etykiety fiołki.** Środek konserwujący: NaN₃ (<0,1%). Kalibrator 1 może być użyty jedynie w metodzie czułej. Surowice kontrolne są kalibrowane wobec hTg zgodnie z europejskimi wymaganiami MRC457
- Próbki z warstwą przeciwciał:** Niewykorzystane próbki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, chronić przed wilgocią.
- Roztwór odmywający (50-krotnie stężony):** Uzupełnić do 1000 ml wodą destylowaną. Tak rozcieńczony roztwór odmywający jest stabilny przez 2 miesiące przy przechowywaniu w temperaturze 2-8°C.

4. MATERIAŁY KONIECZNE A NIEDOSTARCZONE W ZESTAWIE.

- Plastikowe próbki
- Stojaki do próbek.
- Automataczne mikropipety z jednorazowymi końcówkami.
- Wyrząsarka typu Vortex.
- Menzurka.
- Myjka lub urządzenie do mycia próbek.
- Licznik scyntylicyjny gamma.
- Woda destylowana.
- Mieszadło z regulacją o 150-450 obrotów na minutę.

5. OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI DLA UŻYTKOWNIKÓW

Do stosowania w diagnostyce in vitro.

Test ten może być używany wyłącznie przez odpowiednio przeszkolony personel laboratoryjny, zgodnie z zasadami właściwego postępowania w laboratorium (Good Laboratory Practice (GLP)).

Materiał radioaktywny – nie wolno stosować wewnętrznie ani zewnętrznie u ludzi i zwierząt.

Aby otrzymywać powtarzalne wyniki, należy się stosować do następujących zasad:

- Nie mieszać odczynników z różnych partii.
- Nie używać odczynników po upływie terminu ważności.
- Używać dokładnie umytego szkła laboratoryjnego.
- Używać wody destylowanej przechowywanej w czystych pojemnikach.
- Unikać zakażenia próbek, w tym celu należy do każdej próbki i odczynnika używać jednorazowych końcówek.

Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki in vitro.

Zestaw zawiera 125I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35,5 keV).

Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie plamy z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anti-HCV, anti-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa. Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydlęce pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.

Unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołowiem w układzie kanalizacyjnym tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

Aby uzyskać więcej informacji, zobacz kartę charakterystyki materiału (MSDS).

6. POBIERANIE PRÓBEK

Próbki z lipemią należy odrzucić. Próbki przechowywać w temperaturze 2-8°C przez 1 dzień, na dłuższy okres zaleca się zamrażać próbki w -20°C. Należy unikać powtórnego zamrażania rozmrożonych próbek. Po rozmrożeniu i przed użyciem wymieszać próbki poprzez odwrócenie do góry dnem.

Pomimo, że interferencje ze strony autoprzeciwciał przeciw tyreoglobulinie (TgAb) zostały w znacznym stopniu zredukowane poprzez staranny dobór przeciwciał monoklonalnych wykorzystanych w teście, jednak zaleca się zweryfikowanie ważności wyników pomiaru stężenia tyreoglobuliny za pomocą testu odzysku w sposób opisany poniżej.

Surowica lub osocze z EDTA dają podobne wyniki.

$$Y \text{ (osocze)} = 0,99x \text{ (surowica)} + 0,44 \text{ r} = 0,99 \text{ n} = 20$$

7. PROCEDURY TESTU

- Doprowadzić wszystkie odczynniki i próbki do temperatury pokojowej (18-25°C).

- Przed użyciem zmieszać próbki przez delikatne wstrząsanie.

- Dla wszystkich kalibratorów zaleca się dwukrotne wykonanie pomiaru.

1. A. PROCEDURA OZNACZANIA METODĄ CZUŁĄ

1. Przygotować próbki na kalibratory, oznaczane surowicę/osocza, odzyski i kontrole, które będą oznaczane podwójnie. Do pomiaru całkowitej aktywności wykorzystać nie poddane sensytyzacji próbki polistyrenowe.
2. Odmierzyć pipetą 100 μ l kalibratorów, próbek, próbki o znanych stężeniach i kontroli do odpowiednich opłaszczonych probówek. Pipetować bezpośrednio na dno probówek.
3. Dodać 100 μ l rozcieńczalnika do wszystkich probówek, z wyjątkiem probówek do pomiaru aktywności całkowitej.

4. Delikatnie wymieszać próbki w mieszarce wirowej, po czym inkubować przez 2 godziny na wytrząsarce orbitalnej nastawionej na 150-450 obrotów na minutę.
5. Po zakończeniu inkubacji odciągnąć całkowicie zawartość probówek. Jednokrotnie przepłukać próbki 2 ml roztworu płuczającego. **Odciągnąć całkowicie zawartość probówek i usunąć pozostałość płynu.**
6. Dodać 250 μ l znacznika izotopowego (czerwonego) do wszystkich probówek.
7. Inkubować próbki przez 18-24 godzin w temperaturze pokojowej (18-25°C).
8. Ostrożnie odciągnąć mieszaninę inkubacyjną ze wszystkich probówek, z wyjątkiem probówek do pomiaru aktywności całkowitej.
9. Przepłukać dwukrotnie wszystkie próbki z wyjątkiem probówek na oznaczenie aktywności całkowitej 2 ml roztworu płuczającego. **Odciągnąć całkowicie zawartość probówek i usunąć pozostałość płynu.**
10. Zliczyć radioaktywność dla poszczególnych probówek przez 1 minutę w liczniku gamma. Doradza się sprawdzić poziom tła instrumentu przed zliczaniem testu. Aby uniknąć zmienności czułości systemu, tło należy zredukować do minimum albo brać pod uwagę w obliczeniach.

SCHEMAT OZNACZANIA ZA POMOCĄ PROCEDURY CZUŁEJ

Probówki	Aktywność całkowita	Kalibratory	Kontrole	Próbki	Odzysk
Odczynnik					
Kalibratory	-	100 μ l	-	-	-
Kontrole	-	-	100 μ l	-	-
Próbki	-	-	-	100 μ l	-
Próbki o znanych stężeniach*	-	-	-	-	100 μ l
Rozcieńczalnik	-	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
- Wymieszać w mieszarce wirowej i inkubować przez 2 h w temperaturze pokojowej (18-25°C).z wytrząsaniem (150-450 obrótów na minutę). - Pobrać - przemyć: 1 x 2 ml – Pobrać					
Znacznik	250 μ l	250 μ l	250 μ l	250 μ l	250 μ l
- Inkubować przez 18 – 24 h w temp. pokojowej (18-25°C). - Pobrać - przemyć: 2 x 2 ml - Pobrać - Wykonać zliczenie					

B. PROCEDURA OZNACZANIA METODĄ STANDARDOWĄ

1. Przygotować próbki na kalibratory, oznaczane surowicę/osocza, odzyski i kontrole. Do pomiaru aktywności całkowitej należy wykorzystać nie powodujące uczulania próbki polistyrenowe.
2. Odmierzyć pipetą 50 μ l kalibratorów, próbek, próbki o znanych stężeniach i kontroli do odpowiednich opłaszczonych probówek. Pipetować bezpośrednio na dno probówek.

Nie używać kalibratora 1.

3. Dodać 200 μ l rozcieńczalnika do wszystkich probówek, z wyjątkiem probówek do pomiaru aktywności całkowitej.
4. Delikatnie wymieszać próbki w mieszarce wirowej, po czym inkubować przez 2 godziny na wytrząsarce orbitalnej nastawionej na 150-450 obrotów na minutę
5. Po zakończeniu inkubacji odciągnąć całkowicie zawartość probówek. Jednokrotnie przepłukać próbki 2 ml roztworu płuczającego. **Odciągnąć całkowicie zawartość probówek i usunąć pozostałość płynu.**
6. Dodać 250 μ l znacznika izotopowego (czerwonego) do wszystkich probówek.
7. Inkubować próbki przez 18-24 godzin w temperaturze pokojowej (18-25°C).
8. Ostrożnie odciągnąć mieszaninę inkubacyjną ze wszystkich probówek, z wyjątkiem probówek do pomiaru aktywności całkowitej.
9. Przepłukać dwukrotnie wszystkie próbki z wyjątkiem probówek do oznaczania aktywności całkowitej 2 ml roztworu płuczającego. **Odciągnąć całkowicie zawartość probówek i usunąć pozostałość płynu.**
10. Zliczyć radioaktywność dla poszczególnych probówek przez 1 minutę w liczniku gamma. Doradza się sprawdzić poziom tła instrumentu przed zliczaniem testu. Aby uniknąć zmienności czułości systemu, tło należy zredukować do minimum albo brać pod uwagę w obliczeniach.

SCHEMAT OZNACZANIA ZA POMOCĄ PROCEDURY STANDARDOWEJ

Probówki	Aktywność całkowita	Kalibratory	Kontrole	Próbki	Odzysk
Odczynnik					
Kalibratory	-	50 µl	-	-	-
Kontrole	-	-	50 µl	-	-
Próbki	-	-	-	50 µl	-
Próbki znanych stężeniach*	-	-	-	-	50 µl
Rozcieńczalnik	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Wymieszać w mieszarce wirowej i inkubować przez 2 h w temperaturze pokojowej (18-25°C) z wytrząsaniem (150-450 rpm). - Pobrać - przemyć: 1 x 2 ml - Pobrać					
Znacznik	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Inkubować przez 18 – 24 h w temp. pokojowej (18-25°C). - Pobrać - przemyć: 2 x 2 ml - Pobrać - Wykonać zliczenie					

C. TEST ODZYSKU

1. Przygotowanie próbek do odzysku (próbki o znanych stężeniach*).

Rozcieńczyć 1/2 próbki zawartością fiołki do odzysku, przykładowo: **125 µl** próbki (**75 µl** za pomocą metody nieczułej) + **125 µl** (**75 µl** za pomocą metody nieczułej) roztworu do odzysku. Stężenie tyreoglobuliny w roztworze do odzyskiwania jest różne w zależności od partii. Dokładne stężenie znajduje się na etykiecie butelki. Tak przygotowane próbki są „próbkami o znanych stężeniach”.

2. Oznaczanie próbek o nieznanym stężeniu i próbek o znanych stężeniach.

W tej samej serii, zmierzyć stężenie tyreoglobuliny w **obu** próbkach: o znanych stężeniach i o nieznanym stężeniu.

3. Obliczenia.

Odzysk procentowy liczony jest następująco:

$$\text{Odzysk (\%)} = \frac{\text{Wartość w próbce o znanym stężeniu}}{(\text{Wartość w próbce o nieznanym stężeniu} + \text{stężenie roztworu do odzyskiwania})/2} \times 100$$

Przy braku jakichkolwiek interferencji odzysk będzie wynosił około 100 %. Jeżeli wartość odzysku jest niższa niż 80 %, wówczas można przypuszczać interferencję TgAb i należy to zweryfikować, dokonując pomiaru stężenia TgAb w próbce. Jeżeli wartość odzysku jest wyższa niż 120 %, wówczas obserwowana interferencja nie jest spowodowana poziomem stężenia TgAb.

8. OBLICZENIE WYNIKÓW

Wykreślić krzywą kalibracyjną na wykresie log/logit poprzez wykreślenie procenta B/T uzyskanego dla każdego kalibratora (oś y) wobec względnego stężenia TgAb w próbce. Jeżeli wartość odzysku jest wyższa niż 120 %, wówczas obserwowana interferencja nie jest spowodowana poziomem stężenia TgAb.

PRZYKŁAD OBLICZENIA

Wartości podane poniżej należy traktować jako przykładowe i nie należy ich podstawić zamiast danych eksperymentalnych.

Opis	Średnia ilość zliczeń	B/T (%)	Stęż. hTG (ng/ml)
Aktywność całkowita (T)	247160	-	-
CAL 0	110	0,00	0
CAL 1	297	0,08	0,75
CAL 2	525	0,17	1,5
CAL 3	1351	0,50	5
CAL 4	4022	1,58	15
CAL 5	12023	4,82	50
CAL 6	45802	18,49	200
CAL 7	110743	44,76	600
KONTROLA	6890	3,1	27,0

WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać

wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.

- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach. Nie wolno zamrażać i rozmrażać więcej niż jeden raz.

- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

9. WARTOŚCI REFERENCYJNE

Zaleca się aby każde laboratorium określiło własny przedział referencyjny. Wartości podane poniżej są wyłącznie orientacyjne. Wartości normalne dla tyreoglobuliny zostały oznaczone dla 99 próbek, a zaobserwowane poziomy tyreoglobuliny wynosiły **mniej niż 50 ng/ml**.

10. CHARAKTERYSTYKA TESTU

SPECYFICZNOŚĆ

Próbki poddano testom, które obejmowały rozcieńczenie 1 do 1 z Thyroglobulin Recovery. Obliczono procenty odzysku. Oceny tej dokonano na 100 próbkach niezawierających autoprzeciwciał przeciwko tyreoglobulinie (TgAb ujemne) i 100 próbkach zawierających różne poziomy autoprzeciwciał przeciw tyreoglobulinie (dodatnie TgAb) w zakresie od 50 do ponad 5000 IU / ml.

Średnie wartości procentowe odzysku „TgAb ujemnego” i „TgAb dodatniego” wynoszą odpowiednio 91 i 85%. Dlatego nie obserwuje się reakcji krzyżowych z TgAb obecnym w ludzkiej surowicy.

Zaleca się jednak wykonanie testu regeneracji dla każdej badanej próbki, aby zweryfikować wyniki, ponieważ TgAb różni się u pacjentów pod względem jakości i ilości (por. Rozdział 7.C).

CZUŁOŚĆ

Czułość analityczna

LoB (granica ślepej próby) została obliczona poprzez kilkukrotny pomiar ślepej próby i została obliczona jako średnia + 2 odchylenia standardowe rozkładu wartości testowych; obliczono LoB na 0,18 ng / ml.

LoD (granica wykrywalności) została obliczona jako LoB + 1,645 odchylen standardowych próbki o niskim stężeniu badanej w 11 różnych seriach. Obliczono LoD na 0,42 ng / ml.

LoQ (granica oznaczalności) została obliczona poprzez badanie 5 próbek o niskich wartościach, 11 razy. Obliczono LoQ na 0,69 ng / ml.

PRECYZJA

Precyzja została wyznaczona ze zmienności wewnątrz- i zmienności międzytestowej przy różnych stężeniach analizowanej substancji.

Wewnątrztestowa

Surowica	Średnia	±	S.D.	C.V. (%)	N
1	9,4	±	0,2	2,4	20
2	51,9	±	0,8	1,6	20
3	112,8	±	1,7	1,5	20

Międzytestowa

Surowica	Średnia	±	S.D.	C.V. (%)	N
1	9,2	±	0,2	2,2	9
2	51,6	±	1,7	3,3	9
3	215,5	±	4,8	2,2	9

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność metody została sprawdzona przy pomocy analitycznych testu odzyskania i równoległości.

Odzyskiwanie analityczne

Próba	Oczekiwany (ng/ml)	Zmierzone (ng/ml)	Odzysk (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
	327,8	327,6	99,9
2	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
	127	113,8	89,6
	327	312,5	95,6

TEST RÓWNOLEGLIŚCI

Testowano próbki o wysokim stężeniu substancji analizowanej przy różnych rozcieńczeniach kalibratorem zero.

ROZCIĘCZENIE	OCZEKIWANA (ng/ml)	MIERZONA (ng/ml)	ODZYSKANIA (%)
S1 nierozcieńczona	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
S2 nierozcieńczona	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

EFEKT WYSOKICH DAWEK (HOOK-EFFECT)

Próbki o stężeniach oczyszczonej tyreoglobuliny ludzkiej do 100,000 ng/ml dały odczyty powyżej wartości ostatniego standardu w obu procedurach.

БЪЛГАРСКИ

ИМУНОРАДИОМЕТРИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗМЕРВАНЕ НА ЧОВЕШКИ ТИРЕОГЛОБУЛИН В ЧОВЕШКИ СЕРУМ И ПЛАЗМА. ЧУВСТВИТЕЛЕН МЕТОД.

R-CM-100 - 96 Измервания

САМО ЗА IN VITRO ДИАГНОСТИКА

1. КЛИНИЧНИ ПРИЛОЖЕНИЯ

Тиреоглобулинът (hTg) е основният компонент на колоида в тиреоидните фоликули. hTg е гликопротеин с молекулно тегло 660 kDa. Тъй като hTg е специфичен за клетките на щитовидната жлеза, измерването на неговата концентрация в кръвта е от съществено значение за диагностиката на заболяванията на щитовидната жлеза.

В области с ендемична гуша голяма част от засегнатите лица са със значително по-високи нива на тиреоглобулина, отколкото тези на нормалните контроли. Повишени нива на тиреоглобулин, обаче, се наблюдават и при пациенти със спорадична гуша в области, в които поглъщането на йод е значително по-голямо. И в двата случая тези повишени стойности се свързват с развитието на самата гуша.

В началната фаза на подостър тиреоидит нивата на тиреоглобулин са значително повишени. Постоянно високите нива на hTg след завършване на медикаментозното лечение с антитиреоидни средства се считат за показателни за ремисия на хипертиреоидизма след прекратяване на терапията. Ето защо измерването на hTg е част от проследяването и контрола на токсичната дифузна гуша.

2. ПРИНЦИП НА ИЗСЛЕДВАНЕ


Този тестови имунорадиометричен набор (IRMA) е базиран на покрити епруветки с моноклонални антитела, прицелени към отделни епитопи на молекулата на тиреоглобулина.

Три прихващащи антитела се имобилизират на вътрешната стена на епруветките. Те прихващат тиреоглобулина в калибра-торите или на пробите. Добавянето на четвърто антитяло, натоварено с ¹²⁵I, прави системата завършена, като позволява образуването на мост между имобилизираните антитела и натовареното антитяло. След измиване остатъчната радиоактивност, свързана с епруветките, е право пропорционална на концентрацията на тиреоглобулин в калибраторите или пробите.

Внимателният избор на четирите моноклонални антитела позволява постигането на висока ефективност и висока чувствителност и преяснота прекалената специфичност, която понякога се приписва на радиоимунометричните изследвания само с две моноклонални антитела.

3. ВКЛЮЧЕНИ В КИТА РЕАГЕНТИ

- Реагентите са предвидени за 96 измервания.
- Съхранявайте кита и реагентите при температури 2-8°C.
- Срокът на годност на всеки реагент е указан на етикета.

Реагенти	96 Тестов комплект	Разтварянето		
 Тръби, покрити с три анти-човешки тиреоглобулинови миши моноклонални антитела.	2 x 48	Готов за употреба		
<table border="1" data-bbox="76 1854 252 1910"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Радиоактивен трейсър : моноклонално антитяло от мишки анти- човешки тиреоглобулин. Консерванти: NaN3 (< 0.1 %).	Ab	¹²⁵ I	1 флакона 27.5 ml ±480 kBq	Готов за употреба
Ab	¹²⁵ I			
[CAL]0 Калибратори нула Консерванти: NaN3 (< 0.1 %)	1 флакона 3 ml	Готов за употреба		

[CAL]N Калибратори – N = 7 човешки тиреоглобулин във фосфатен буфер. Консерванти: NaN3 (< 0.1 %)	7 флакона 1 ml	Готов за употреба			
[CONTROL] Контрола човешки тиреоглобулин във фосфатен буфер със съдържание на протеини и протеинови стабилизатори. Консерванти: NaN3 (< 0.1 %)	1 флакона 1 ml	Готов за употреба			
<table border="1" data-bbox="836 398 991 427"><tr><td>DIL</td><td>BUF</td></tr></table> Разреждащо вещество фосфатен буферен разтвор с волски серумен албумин. Консерванти: NaN3 (< 0.1 %)	DIL	BUF	1 флакона 25 ml	Готов за употреба	
DIL	BUF				
<table border="1" data-bbox="836 510 1082 539"><tr><td>RECOVERY</td><td>SOLN</td></tr></table> Разтвор за възстановяване ане човешки тиреоглобулин във фосфатен буфер със съдържание на протеини и протеинови стабилизатори. Концентрацията на тиреоглобулин варира от партида до партида. Моля, вижте етикета на бутилката за точната концентрация. Консерванти: NaN3 (< 0.1 %)	RECOVERY	SOLN	1 флакона 4.2 ml	Готов за употреба	
RECOVERY	SOLN				
<table border="1" data-bbox="836 734 1118 763"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Промиващ разтвор (50 пъти концентриран). Буфер Tris-HCl с детергент. Касови апарати: NaN3 (<0.1%)	WASH	SOLN	CONC	1 флакона 20 ml	1000 ml с дестилирана вода
WASH	SOLN	CONC			

- 1- Контрола и Калибратор:** За точната стойност вижте етикета на флакона. Калибратор 1 може да се използва само при чувствителния метод. Калибраторите са калибрани по европейски референтен продукт MRC457
- 2- Покрити епруветки:** Неизползваните епруветки трябва да се съхраняват при 2-8°C, защитени от влага.
- 3- Измиващ разтвор (50 x концентриран):** Разредете го до 1000 ml с дестилирана вода. Разреденият измиващ разтвор е стабилен в придължение на 2 месеца при 2-8°C.

4. НЕОБХОДИМ МАТЕРИАЛ, НЕВКЛЮЧЕН В КИТА

- Пластмасови епруветки;
- Стойки за епруветки;
- Регулируеми, автоматични микропипети с накрайници за еднократна употреба;
- Завихрящ смесител;
- Градуиран цилиндър;
- Аспирационна помпа или автоматично измиващо устройство;
- Сцинтилационен гама брояч;
- Дестилирана вода.
- Орбитално клатещо устройство, настроено на 150-450 об. в минута;

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ ЗА ПОТРЕБИТЕЛЯ

Този материал трябва да се използва изключително за инвитро диагностика.

Комплектът е предназначен за професионална употреба. Ето защо трябва да се използва изключително от експертен лабораторен персонал, съгласно стандартите на GLP.

Радиоактивен материал - да не се прилага вътрешно или външно на хора или животни.

За постигането на резултати в репродукцията трябва да се спазват следните правила:

- Да не се смесват реактиви от различни партиди.
- Да не се използват реактиви с изтекъл срок на годност.
- Да се използват идеално чисти стъклени съдове.
- Да се използва дестилирана вода, съхранявана в чисти съдове.
- Да се избягва всякакво заразяване на пробите. За тази цел да се използват инструменти за еднократна употреба за всяка проба и реактив.

Безопасност:

За използване изключително за инвитро диагностика.

Тази опаковка съдържа 125 л (период на полуразпад: 60 дни), радиоактивен материал, излъчващ йонизираща радиация X (28 keV) и γ (35,5 keV).

Този радиоактивен продукт може да бъде получаван, закупуван, притежаван или използван единствено от упълномощени за това лица; закупуването, съхраняването, използването и обмяната на радиоактивни продукти е обект на законодателството на страната на крайния потребител. Този продукт в никакъв случай не може да се прилага върху хора или животни. Всички дейности с радиоактивни продукти трябва да се извършват на специално определени за целта места, далеч от места за преминаване на хора. Лабораторията трябва да води дневник за получаването и съхранението на радиоактивните материали. Лабораторното оборудване и стъклени съдове, които биха могли да са заразени с радиоактивни вещества, трябва да бъдат изолирани, за да се избегне кръстосано заразяване с различни изотопи.

Всяко заразяване или загуба на радиоактивно вещество трябва да се уреди съгласно процедурите за радиоактивна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се обработват така, че да се спазва действащото законодателство. Придържането към основните правила за радиоактивни материали осигурява адекватна защита.

Съставките от човешка кръв, включени в този комплект са оценени по методи, одобрени за Европа или ФАЛ на САЩ и са отрицателни за HBsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Никой познат метод не може да гарантира пълна сигурност, че производни от човешка кръв няма да предадат хепатит, спин или друга инфекция. Ето защо работата с реактивите, серума или с плазмените проби трябва да се извършва в съответствие с местните процедури за безопасност.

Всички животински продукти и техните производни са събрани от здрави животни. Съставките от говежди произход са от страни, където не е открит случай на СЕГ. Все пак с веществата, съдържащи съставки с животински произход, трябва да се работи като потенциално заразни.

Натриевият азид е вреден при вдишване, поглъщане или допир с кожата (натриевият азид се използва като консервиращ агент). Азидът в тази опаковка може да реагира с оловото и с медта в канализацията и да създаде експлозивни смеси, ето защо е необходимо използването оборудване да се почиства обилно с вода.

Не пушете, не пийте, не се хранете и не използвайте козметични продукти в лабораториите, където се използват радиоактивни продукти. Не прехвърляйте с пипета с уста. Използвайте предпазно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

За повече информация вижте информационния фиш (MSDS).

6. ВЗИМАНЕ НА ПРОБИТЕ

Липемични серуми могат да дадат аномални резултати. Пробите могат да се съхраняват при температури 2° - 8°C в продължение на до 24 часа. За продължително съхранение те трябва да бъдат разделени на аликвотни части, замразени и съхранявани при -20°C. Избягвайте повторните цикли на размразяване-замразяване. След размразяване и преди употреба разбъркайте пробите чрез обръщане.

Въпреки че кръстосаната реактивност с автоантитела на анти-тиреоглобулин (TgAb) е намалена в значителна степен чрез внимателния избор на моноклоналните антитела, използвани при изследването, е препоръчително да проверите валидността на резултата от измерването нивата на тиреоглобулин чрез провеждането на описания по-долу възстановителен тест.

Серумната или EDTA плазма дава подобни резултати.
Y (плазма) = 0,99x (серум) + 0,44 г = 0,99 n = 20

7. ПРОЦЕДУРА ПО ИЗСЛЕДВАНЕТО

- Преди употреба приведете всички проби и калибратори до стайна температура (18-25°C).
- Преди употреба смесете пробите чрез обръщане.
- При всички калибратори е препоръчително двойно измерване.

A. ЧУВСТВИТЕЛНА ПРОЦЕДУРА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

1. Пригответе епруветките, в които ще поставите калибраторите, изследваните серуми/ плазми, възстановителните разтвори и контролите по два броя. За измерването на общата радиоактивност използвайте нечувствителни полистиролови епруветки.

2. Накапете с пипети 100 µl от калибраторите, пробите, смесени проби* и контролите в съответните покрити епруветки. Накапвайте директно на дъното на епруветките.
3. Добавете **100 µl** разреждащо вещество към всички тези епруветки, с изключение на тези за общото преброяване.
4. **Размесете внимателно епруветките в завихрящ смесител и инкубирайте за 2 часа** върху орбитално клатещо устройство, настроено на 150-450 оборота в минута.
5. В края на периода на инкубация аспирирайте напълно съдържанието на епруветките. Измийте еднократно епруветките с **2 ml** измиващ разтвор. **Аспирирайте напълно и отстранете остатъчната влага.**
6. Добавете **250 µl** радиоактивен трейсър (оцветен в червено) към всички епруветки.
7. Инкубирайте епруветките за **18-24 часа** на стайна температура (18-25°C)
8. Аспирирайте внимателно инкубационната смес от всички епруветки, освен тези за измерване на общата радиоактивност.
9. Измийте всички епруветките двукратно с **2 ml** измиващ разтвор, освен тези за измерване на общата радиоактивност. **Аспирирайте напълно съдържанието на епруветките и отстранете остатъчната влага.**
10. Изчислява се радиоактивността за отделните епруветки в продължение на 1 минута в гама брояч. Препоръчително е да проверите фоновото ниво на инструмента, преди да преброите теста. За да се избегнат разликите в чувствителността на системата, фонът трябва да се намали до минимум или да се вземе предвид при изчислението.

СХЕМА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО С ЧУВСТВИТЕЛНА ПРОЦЕДУРА

Епруветки	Обща радиоактивност	Калибратори	Контроли	Проби	Вещество за възстановяване
Реагент					
Калибратори	-	100 µl	-	-	-
Контроли	-	-	100 µl	-	-
Проби	-	-	-	100 µl	-
смесени проби *	-	-	-	-	100 µl
Разреждащо вещество	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
- Смесете в завихрящо устройство и инкубирайте за 2 часа на стайна температура (18-25°C) в клатещо устройство (150-450 оборота в минута).					
- Аспирирайте - измийте еднократно с 2 ml – Аспирирайте.					
Трейсър	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Инкубирайте: 18 – 24 часа на стайна температура (18-25°C)					
- Аспирирайте - измийте двукратно с 2 ml - Аспирирайте					
- Извършете преброяване					

B. НЕЧУВСТВИТЕЛНА ПРОЦЕДУРА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

1. Пригответе епруветките, в които ще поставите калибраторите, изследваните серуми/ плазми, възстановителните разтвори и контролите по два броя. За измерването на общата радиоактивност използвайте нечувствителни полистиролови епруветки.
2. Накапете с пипети **50 µl** от калибраторите, пробите, смесени проби* и контролите в съответните покрити епруветки. Накапвайте директно на дъното на епруветките.
Не използвайте калибратор 1.
3. Добавете **200 µl** разреждащо вещество към всички тези епруветки, с изключение на тези за общото преброяване.
4. Размесете внимателно епруветките в завихрящ смесител и инкубирайте за **2 часа** върху орбитално клатещо устройство, настроено на 150-450 оборота в минута
5. В края на периода на инкубация аспирирайте напълно съдържанието на епруветките. Измийте еднократно епруветките с **2 ml** измиващ разтвор. **Аспирирайте напълно и отстранете остатъчната влага.**
6. Добавете **250 µl** радиоактивен трейсър (оцветен в червено) към всички епруветки.
7. Инкубирайте епруветките за **18-24 часа** на стайна температура (18-25°C)
8. Аспирирайте внимателно инкубационната смес от всички епруветки, освен тези за измерване на общата радиоактивност.
9. Измийте всички епруветките двукратно с **2 ml** измиващ разтвор, освен тези за измерване на общата радиоактивност.

Аспирирайте напълно съдържанието на епруветките и отстранете остатъчната влага.

10. Измерете радиоактивността, свързана с епруветките (време на броене: 1 минута) с гама брояч. Препоръчително е преди измерването да преброите фона на уреда. За да избегнете вариациите в чувствителността на системата, фонът трябва да бъде намален до минимум или правилно настроен.

СХЕМА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО С НЕЧУВСТВИТЕЛНА ПРОЦЕДУРА

Епруветки	Обща радио-актив.	Кали-братор и	Конт-роли	Проби	Вещество за въз-становяв.
Реагент					
Калибратори	-	50 µl	-	-	-
Контроли	-	-	50 µl	-	-
Проби	-	-	-	50 µl	-
смесени проби *	-	-	-	-	50 µl
Разреждащо вещество	-	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Смесете в завихрящо устройство и инкубирайте за 2 часа на стайна температура (18-25°C) в клетъчно устройство (150-450 оборота в минута). - Аспирирайте - измийте еднократно с 2 ml - Аспирирайте.					
Трейсър	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
- Инкубирайте: 18 – 24 часа на стайна температура (18-25°C) - Аспирирайте - измийте двукратно с 2 ml – Аспирирайте. - Извършете преброяване					

В. ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

- Приготвяне на възстановителните проби (смесени проби*)**
Разредете 1/2 от пробите със съдържанието на флаконите с възстановителен разтвор, например проба 125 µl (75 µl при нечувствителния метод) + разтвор за възстановяване 125 µl (75 µl при нечувствителния метод). Концентрацията на тиреоглобулин в разтвора за възстановяване е поменлива от партида до партида. Моля, вижте етикета на бутилката за точната концентрация. Пригответе по този начин проби представляват „смесените проби“.
- Изследване на несмесените и на смесените проби.**
Измерете тиреоглобулина и в смесените, и в несмесените проби от една и съща серия.
- Изчисляване.**
Процентът на възстановяване се изчислява по следния начин:

Възстановяване (%) =

$$\frac{\text{Стойност на смесената проба}}{\text{(стойност на несмесената проба + концентрация на регенериращия разтвор)/2}} \times 100$$

Ако няма кръстосана реактивност, възстановяването ще бъде близо до 100 %. Ако то е по-малко от 80%, кръстосаната реактивност с TgAb може да бъде супресирана и трябва да бъде проверена чрез измерване на TgAb в пробата. Ако процентът на възстановяване надвишава 120 %, то наблюдаваната кръстосана реактивност не се дължи на TgAb.

8. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Начертайте калибровъчната крива на графиката log / logit, като нанесете В / Т процента, получен за всеки калибратор (у-ос) спрямо относителната концентрация (х-ос). Изчислява се процентът В / Т на всяка проба и се отчита концентрацията на антиялото чрез интерполация на калибрационната крива.

ПРИМЕР ЗА ИЗЧИСЛЕНИЕ

Дадените по-долу стойности трябва да се разглеждат като пример и не трябва да бъдат замествани вместо експериментални данни.

описание	Средния т брой преброявания	В/Т (%)	Конц. hTg (ng / ml)
Обща активност (Т)	247160	-	-
Калибратор 0	110	0,00	0
Калибратор 1	297	0,08	0,75
Калибратор 2	525	0,17	1,5
Калибратор 3	1351	0,50	5
Калибратор 4	4022	1,58	15
Калибратор 5	12023	4,82	50
Калибратор 6	45802	18,49	200
Калибратор 7	110743	44,76	600
контрол	6890	3,1	27,0

ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни проби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

9. РЕФЕРЕНТНИ СТОЙНОСТИ

Препоръчва се всяка лаборатория да определи своя референтен интервал. Посочените по-долу стойности са само примерни. Нормалните стойности на тиреоглобулина са определени на базата на 99 проби, при което бе установено, че съдържанието на тиреоглобулин е по-малко от 50 ng/ml.

10. ПРОВЕЖДАНЕ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

СПЕЦИФИЧНОСТ

Пробите се обработват в анализи, които включват едно към едно разреждане с възстановяване на тироглобулин. Изчислени са процентите на възстановяване. Тази оценка е направена със 100 проби, които не съдържат анти-тиреоглобулинови авто-антитела (TgAb отрицателни) и 100 проби, съдържащи различни нива на анти-тиреоглобулинови авто-антитела (TgAb положителни), вариращи от 50 до повече от 5000 IU / ml.

Средните проценти на възстановяване на "TgAb отрицателен" и "TgAb положителен" са съответно 91 и 85%. Следователно не се наблюдава кръстосана реакция с TgAb, присъстващ в човешкия серум.

Препоръчва се обаче тест за възстановяване за всяка изследвана проба, за да се валидират резултатите, тъй като TgAb варира в зависимост от пациентите по отношение на качество и количество (вж. Раздел 7.С).

Чувствителност

Аналитична чувствителност

LoB (граница на празно място) се изчислява чрез измерване на заготовката няколко пъти и се изчислява като средно + 2 стандартни отклонения в разпределението на стойностите на теста; LoB се изчислява на 0,18 ng / ml.

LoD (граница на откриване) беше изчислена като LoB + 1.645 стандартни отклонения на проба с ниска концентрация, тествана в 11 различни цикъла. LoD се изчислява на 0,42 ng / ml.

LoQ (границата на количествено определяне) е изчислена чрез тестване на 5 проби с ниски стойности, 11 пъти. LoQ се изчислява на 0.69 ng / ml.

ПРЕЦИЗНОСТ

Точността е оценена след вътрешно-аналитична и между-аналитична вариабилност, при различни концентрации на анализите.

Интра-анализ

Серум	Средно	±	Стандартно отклонение (ng/ml)	Коефициент на вариация (%)	Брой
1	9,4	±	0,2	2,4	20
2	51,9	±	0,8	1,6	20
3	112,8	±	1,7	1,5	20

Интер-анализ

Серум	Средно	±	Стандартно отклонение (ng/ml)	Коефициент на вариация (%)	Брой
1	9,2	±	0,2	2,2	9
2	51,6	±	1,7	3,3	9
3	215,5	±	4,8	2,2	9

ТОЧНОСТ

Точността на метода е проверена чрез възстановителни аналитични тестове и тестове на паралелизъм.

Аналитично възстановяване

Проба	Очаквано (ng/ml)	Измерено (ng/ml)	Възстановяване (%)
1	27,8	28,1	103,2
	28,2	29,6	105,0
	28,6	29,3	102,4
	30,3	31,5	104,0
	35,3	36,5	103,4
	52,8	51,4	97,3
	127,8	113,9	89,1
	327,8	327,6	99,9
2	27,0	30,9	114,4
	27,4	29,5	107,7
	27,8	29,3	105,4
	29,5	31,5	106,8
	34,5	35,5	102,9
	52,0	51,8	99,6
	127	113,8	89,6
	327	312,5	95,6

Паралелизъм

Серумите с високо съдържание на анализираният вещество бяха тествани при различно разреждане с нулев калибратор.

Разреждане	Очаквано (ng/ml)	Измерено (ng/ml)	Възстановяване (%)
S1 неразреден	-	161	-
1/2	80,5	88,1	109,4
1/4	40,2	44,7	111,0
1/8	20,1	24,5	121,6
1/16	10,1	12,0	119,3
1/32	5,0	6,4	127,2
S2 неразреден	-	241,5	-
1/2	120,8	121,2	100,4
1/4	60,4	64,0	106,0
1/8	30,2	33,3	110,3
1/16	15,1	15,6	103,4
1/32	7,5	8,7	115,1

СВРЪХДОЗОВ „ХУК“ ЕФЕКТ

Пробите, смесени с пречистен човешки тиреоглобулин до 100000 ng/ml дадоха стойности, по-високи от тези на последния калибратор и при двете процедури.

DIAsource TG-S IRMA

[체외진단의료기기]

저장, 사용 및 교환은 최종 사용자 국가의 법률에 적용받는다. 어떤 경우에도 제품을 사람이나 동물에게 투여해서는 안된다.

모든 방사능 취급은 일상구역과 떨어져 있는 방사선 관리 구역 내에서 실행되어야 한다. 방사성물질의 인수와 저장 이력 기록은 연구실에 보관되어야 한다. 다른 방사성 동위원소와의 교차 오염을 방지하기 위해 방사성 물질에 오염될 수 있는 실험실 장비와 유리 식기를 분리하여 해야 한다.

유출된 방사능은 방사선 안전 규정따라 즉시 제거해야 한다. 방사성 폐기물은 실험실을 관할하는 당국의 현지 규정과 지침에 따라 폐기되어야 한다. 방사선 안전의 기본 규칙을 준수할 때 적절한 방호가 된다.

이 키트에 포함된 인체 혈액 성분은 유럽 승인 또는 FDA 승인 방법에 의해 검사되었으며 HbsAg, anti-HCV, nti-HIV-1,2에 대해 음성이다. 알려진 어떤 방법도 사람의 혈액 유도체가 간염, 에이즈 또는 다른 감염을 시키지 않을 것이라는 완전한 확신을 줄 수는 없다. 시약·혈청·혈장·검체의 취급은 현지 안전 절차에 따라야 한다.

모든 동물제품과 파생제품은 건강한 동물로부터 수집되었다. 소 성분은 광우병이 보고되지 않은 국가에서 유래한다. 그러나 동물성 물질을 함유한 구성요소는 잠재적으로 감염될 수 있는 것으로 취급되어야 한다.

시약(방부제: 아지드나트륨)과의 피부 접촉을 피한다. 이 키트의 아지드는 배관에서 납 및 구리와 반응할 수 있으며 이러한 경우 매우 폭발적인 금속 아지드가 형성된다. 세척 단계에서는 아지드가 쌓이지 않도록 많은 양의 물로 배수구를 세척한다.

작업 구역에서 흡연, 음주, 식사 및 화장품을 사용하지 않는다. 입으로 피펫을 하지 않는다. 보호복과 일회용 장갑을 착용한다.

자세한 내용은 Material Safety Data Sheet (MSDS)를 참조하십시오.

VI. 검사 방법:

- Sensitive Procedure (*자동화 장비 : Gamma Pro)**
 - Calibrators, 검체, Recoveries 및 Control를 위한 시험관을 2개씩 준비한다. 총계수율(Total Activity)을 위해 감작 안된 시험관을 준비한다.
 - 피펫으로 Calibrators, 검체, Spiked sample 및 Control를 100 μ l씩 흡입 후 차례대로 코팅된 시험관(coated tubes)에 첨가한다.
 - Total count 시험관을 제외한 모든 시험관에 diluents 100 μ l씩 첨가한다.
 - Vortex으로 시험관을 부드럽게 흔들어 섞은 후 150-450rpm에 설정된 궤도형 웨이커(orbital shaker)로 2시간 동안 반응 시킨다.
 - 반응 후, 시험관의 내용물을 완전히 흡입한다. 그리고 시험관을 2ml의 희석된 세척용액으로 세척한다. 완전히 흡입하고 잔여 수분을 제거한다.
 - 모든 시험관에 tracer(붉은색) 250 μ l씩 첨가한다.
 - 모든 시험관을 실온(18-25°C)에 18-24시간 동안 반응 시킨다.
 - Total count 시험관을 제외한 모든 시험관에서 반응 시킨 혼합물을 조심스럽게 흡입한다.
 - Total count 시험관을 제외한 모든 시험관을 희석된 2ml의 세척용액으로 두 번 세척한다. 시험관의 내용물을 완전히 흡입하고 잔여 수분을 제거한다.
 - 1분 동안 gamma counter로 시험관에 결합된 방사능을 측정한다. 측정 전, 계수기 배경 방사능을 측정하는 것을 권한다. 배경 방사능을 최소로 하거나 조정하는 것이 정확한 측정에 도움이 된다.
- 검사 방법: Non-Sensitive Procedure (*자동화 장비 : Gamma Pro)**
 - Calibrators, 검체, Recoveries 및 Control를 위한 시험관을 2개씩 준비한다. 총계수율(Total Activity)을 위해 감작 안된 시험관을 준비한다.
 - 피펫으로 Calibrators, 검체, 참가시료(Spiked sample) 및 Control를 50 μ l씩 흡입 후 차례대로 코팅된 시험관(coated tubes)에 첨가한다. **Calibrator 1은 사용하지 않는다.**
 - Total count 시험관을 제외한 모든 시험관에 diluents 200 μ l씩 첨가한다.
 - Vortex으로 시험관을 부드럽게 흔들어 섞은 후 150-450rpm에 설정된 궤도형 웨이커(orbital shaker)로 2시간 동안 반응 시킨다.
 - 반응 후, 시험관의 내용물을 완전히 흡입한다. 그리고 시험관을 2ml의 희석된 세척용액으로 한번 세척한다. 완전히 흡입하고 잔여 수분을 제거한다.
 - 모든 시험관에 tracer(붉은색) 250 μ l씩 첨가한다.
 - 시험관을 실온(18-25°C)에 18-24시간 동안 반응 시킨다.
 - Total count 시험관을 제외한 모든 시험관에서 반응 시킨 혼합물을 조심스럽게 흡입한다.
 - Total count 시험관을 제외한 모든 시험관을 희석된 2ml의 세척용액으로 두 번 세척한다. 시험관의 내용물을 완전히 흡입하고 잔여 수분을 제거한다.
 - 1분 동안 gamma counter로 시험관에 결합된 방사능을 측정한다. 측정 전, 계수기 배경 방사능을 측정하는 것을 권한다. 배경 방사능을 최소로 하거나 조정하는 것이 정확한 측정에 도움이 된다.

I. 제품개요

번호	항 목	내 용
1	품목명	자가면역질환검사시약
2	제품명	Diasource TG-S IRMA
3	허가번호	체외 수인 15-231 호
4	사용목적	사람의 혈청 내 Thyroglobulin 정량측정
5	포장단위	100 테스트/키트
6	저장방법	2~8°C, 제조일로부터 72일
7	사용기한	2~8°C, 제조일로부터 72일

II. 측정원리

이 시약은 TG 분자에 반응하는 단일클론 항체로 코팅된 시험관에 기반한 방사면역계측법이다. 3개의 항체가 시험관에 코팅되어 있다. 검체 또는 표준용액의 TG와 항체와 반응한다. ¹²⁵I로 표지된 항체가 첨가되면서 시스템이 완성되고 코팅된 항체와 표지된 항체사이의 다리가 형성된다. 세척 후, 시험관에 결합한 잔여 방사능은 검체와 표준용액의 TG 농도에 비례한다.

III. 제공되는 시약

번호	명칭	구성	재구성
1	Coated Tubes 코팅된 시험관	2 x 48	즉시 사용 가능
2	Tracer (Anti-hTG ¹²⁵ I) 트레이서 (¹²⁵ Iodine 표지 Anti-hTg)	1 vial, 27.5ml	즉시 사용 가능
3	Calibrator 0 표준액 0번	1 vial, 3ml	즉시 사용 가능
4	Calibrator 1-7 표준액 1-7번	7 vials, 1ml/vial	즉시 사용 가능
5	Control 정도관리용액	1 vial, 1ml	즉시 사용 가능
6	Diluent Buffer 희석용 완충액	1 vial, 25ml	즉시 사용 가능
7	Recovery Solution 회수용 용액	1 vial, 4.2ml	즉시 사용 가능
8	Washing Solution Concentration 세척용액 농축액	1 vial, 20ml	증류수 980ml를 첨가하여 희석

- Control 및 Calibrators: 정확한 농도 값을 위해 각 vial에 부착된 라벨에 인쇄된 값을 참고한다. Calibrator 1은 Sensitive Procedure에만 사용한다.
- Coated Tubes: 미사용 시험관은 2-8°C 냉장 보관해야 하며 습기로부터 보호해야 한다.
- Washing Solution (50배 농축): 희석된 세척용액은 2-8°C에 2개월 동안 유효하다.

IV. 검체 준비

- 지방형성 및성 검체의 사용은 금한다.
- 검체는 2-8°C 24시간까지 보관 가능하며, 장기간 보관을 위해서는 냉동 해동의 반복을 피하기 위해 적당량을 분배한 후 -20°C에 냉동 보관한다.
- 혈청 또는 EDTA 혈장은 유사한 결과를 제공합니다.
 $Y(\text{혈장}) = 0.99x(\text{혈청}) + 0.44$ $r = 0.99$ $n = 20$

V. 시약 준비

체외 진단용으로만 사용한다.
숙련된 실험실 직원만 이 실험을 해야 하며 취급은 GLP를 따라야 한다.
방사성 물질 - 인간이나 동물의 내부 또는 외부 사용하지 않는다.

재현 가능한 결과를 얻기 위해 다음 규칙을 준수해야 한다.

- 다른 로트의 시약과 혼합하지 않는다.
- 키트 및 구성품을 유효기간 이후에는 사용하지 않는다.
- 깨끗한 유리 제품을 사용한다.
- 깨끗한 용기에 보관된 증류수를 사용한다.
- 교차 오염을 방지하려면 각 시약과 검체마다 깨끗한 일회용 팁을

사용한다.

안전

이 키트는 125I (반감기 : 60 일), 이온화 X (28 keV) 및 γ (35.5 keV) 방사선을 포함한다. 본 방사선 제품은 허가받은 자에게만 양도 및 사용이 가능하고 구매,

DIAsource TG-S IRMA

[체외진단의료기기]

VII. 회수율 검사(Recover Test)

1. Spiked sample 준비 과정

회수용 용액(Recovery Solution) vial의 내용물로 검체의 1/2를 희석한다.

(예) 검체 125 μ l + Recovery Solution 125 μ l

(Non-Sensitive 검사 방법에서는 검체 75 μ l + 회수용 용액 75 μ l)

회수 용액의 티로글로불린 농도는 로트마다 다릅니다. 정확한 농도는 병의

라벨을 참조하십시오 위와 같이

준비된 내용물은 "spiked sample"이다

2. Spiked sample와 검체의 thyroglobulin을 측정한다.

3. 회수율(Recovery) (%) 계산 방법

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Spiked sample의 thyroglobulin 값}}{\text{(검체의 thyroglobulin 값 + 회수 용액의 농도) / 2}} \times 100$$

간섭이 없는 경우 recovery는 100%에 가깝다. 그러나 recovery가 80% 이하일 경우, Tg-Ab의 간섭을 의심 할 수 있으며 검체에서 Tg-Ab를 측정해야 한다. Recovery가 120% 이상일 경우에는 관측된 간섭은 Tg-Ab에 의한 것이 아니다

VIII. 참고치

정상 범위 : 50ng/ml 이하를 정상으로 간주한다.

IX. 결과 산출

- 각 표준용액의 B/T (%) (y축)에 해당되는 농도(x축)로 log/lin 그래프에 표준곡선을 그린다. 각 검체의 농도는 보간법으로 표준곡선에서 산출한다.
- 계산의 예
다음 자료는 예시일 뿐, 실제 표준곡선을 대신하여 사용해서는 안 된다.

항목	Average cpm	B/T (%)	hTg 농도 (ng/ml)
Total Activity (T)	247160	-	-
Calibrator 0	110	0.00	0
Calibrator 1	297	0.08	0.75
Calibrator 2	525	0.17	1.5
Calibrator 3	1351	0.50	5
Calibrator 4	4022	1.58	15
Calibrator 5	12023	4.82	50
Calibrator 6	45802	18.49	200
Calibrator 7	110743	44.76	600
Control	6890	3.1	27.0

X. 완제품 시험규격

1. 외관검사

제조원의 품질관리표준지침서 (문서번호PRO-RCD-01)에 따라 확인

- 키트와 구성품이 일치하는지 확인
- 제품 구성표의 lot와 키트안의 구성품이 일치하는지 확인
- 구성품과 키트의 유효기간을 확인
- 구성품의 라벨상태를 확인
- 구성품의 포장상태를 확인(용량, 물질 등)
- 서류가 맞게 있는지 확인(사용설명서, 품질서류 등)
- 박스에 라벨이 정확히 부착되어 있는지 확인

2. 성능시험

제조원의 품질관리표준지침서 (문서번호PRO-PCQ-02)에 따라 확인

- 총계수 (total activity)가 정해진 범위 (250000-265000CPM)¹⁾ 안에 들어 오는지 확인
- 보정물질 0의 결합력이 정해진 범위 (0.10%)¹⁾ 안에 들어오는지 확인
- 마지막 보정물질의 값이 정해진 범위 (38%)¹⁾ 안에 들어오는지 확인
- 정도관리물질의 값이 정해진 범위 (19.2-28.8ng/mL)¹⁾ 안에 들어오는지 확인
- 내부 혹은 외부 정도관리 결과가 정해진 범위 (0-0.75ng/mL, 8.1-10.1ng/mL, 73.7-83.3ng/mL, 201-226ng/mL)¹⁾ 안에 들어오는지 확인

※ 주석1) : Lot에 따라 변경될 수 있으며, 별도의 Annex로 값이 고지됨.

XI. 사용시 주의사항

- 체외진단용으로만 사용하여야 하며, 체외진단용 이외 흡입이나 체내 투여 등을 금지한다.
- 동 제품에 포함된 방사성동위원소 취급 시 다음 사항을 준수하여야 한다.
 - 방사성동위원소는 지정된 장소에 보관하며, 관련 법령에 따라 자격을 갖춘자가 지정된 장소에서 사용한다.

- 방사성동위원소를 취급할 때 안전에 영향을 주는 불필요한 행동을 하지 않는다. (예, 음식 섭취, 흡연, 화장 등)
- 방사성동위원소를 포함한 시약을 분주해야 하는 경우, 입으로 파이펫팅 하지 않는다.
- 방사성동위원소를 취급할 때에는 장갑 및 실험복을 착용하며, 검사가 완료되면 손을 깨끗이 닦는다.
- 유출된 모든 물질은 즉시 닦아 낸 후 폐기 또는 취급에 관련된 소관 법령에 따라 처리하여야 하며, 방사성 물질의 오염이나 방사성 물질 등의 분실은 관련 법령에 정한 규정된 절차에 따라 처리한다.
- 검사를 실시하기 전에 모든 제품(구성품 포함)은 해당 제품별 검사 온도 조건에 따라 실시한다.
- 그 밖에 방사성동위원소의 보관, 이동, 사용 및 폐기 등 취급에 관한 사항은 관련 법규에 따른다.
- 서로 다른 lot의 시약은 혼합하지 않는다.
- 방사선 안전에 관한 기본 규칙
방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 방사선 안전 기본 규칙에 대한 엄수는 충분한 보호를 제공한다.
 - 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.
 - 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.
- 아지드화 나트륨
몇몇 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 폭발성금속 아지드화합물을 형성하기 위해 납, 구리, 황동 반응을 일으킬 수 있다. 배관 계통을 통하여 많은 양의 물을 흘려 보냄으로서 시약을 처분한다.
- 사람의 혈청
모든 혈액 검체는 질병을 전염시킬 수 있는 것으로 (예를 들면 간염이나 AIDS) 취급하라.

11. BIBLIOGRAPHIE–BIBLIOGRAPHY– ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ–BIBLIOGRAFIE–BIBLIOGRAFIA– BIBLIOGRAFIA–BIBLIOGRAFÍA– БИБЛИОГРАФИЯ

1. Edelhoch H. The Properties of Thyroglobulin VIII. The Iodination of Thyroglobulin. J. Biol. Chem 1962, **237**, 2778-2787.
2. Ruiz-Garcia J., Ruiz de Almodóvar J. M., Olea N., Pedraza V. Thyroglobulin level as a Predictive Factor of Tumoral Recurrence in Differentiated Thyroid Cancer. J. Nuclear Medicine, 1991, **32** (3), 395-398.
3. Pacini F., Pinchera A., Giani C., Grasso L., Doveri F., Baschieri L. Serum thyroglobulin in thyroid carcinoma and other thyroid disorders. J. Endocrinol. Invest., 1980, **3**, 283-292.
4. Rubello D., Girelli M. E., Casara D., Piccolo M., Perin A., Busnardo B. Usefulness of the combined antithyroglobulin antibodies and thyroglobulin assay in the follow-up of patients with differentiated thyroid cancer. J. Endocrinol. Invest. 1990, **13**, 737-742.
5. Sheppard M. C. Serum Thyroglobulin and Thyroid Cancer. Quarterly J. Medicine. New Series, 1986, **59** (229), 429-433.
6. Tourniaire J., Bernard M. H., Ayzac L., Nicolas M. H., Bornet H. Dosage de la thyroglobuline sérique après lobectomie thyroïdienne totale unilatérale pour cancer thyroïdien différencié. La Presse Médicale, 1990, **19** (28), 1309-1312.
7. Pacini F., Elisei R., Fugazzola L., Pinchera A. Humoral Markers for Thyroid Carcinoma in Clinical Practice. Diagn. Oncol., 1991, **1**, 194-196.

Physikalisches Daten of ¹²⁵I

Physical characteristics of ¹²⁵I

Características físicas ¹²⁵I

φυσικά χαρακτηριστικά του ¹²⁵I

Caractéristiques physique de ¹²⁵I

Caratteristica fisica ¹²⁵I

Fysieke kenmerken van ¹²⁵I

Charakterystyka fizyczna I-¹²⁵

Características físicas ¹²⁵I

Физични характеристики на ¹²⁵I

t_{1/2} = 59.9 Tagen, days, dias, ημέρες, jours, giorni, dagen, dni, días,
дена

Wichtigste Emissionen

Main emissions

Emissiones principales

κύριες εκπομπές

Emissions principales

Emissione principale

Hoofduitzendingen

Główne rodzaje promieniowania

Emissões principais

Основни лъчения

	E (MeV)	%
γ	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25