



# TPO Ab RIA

***R-CO-100***

---

Version : 230123

Date of issue : 23/01/2023

Revision date: 23/01/2023

# **History**

---

## **Summary of change:**

<b>Current Version:</b>
<b>230123</b>
New logo

# ENGLISH

## RADIOIMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ANTI-THYROPEROXIDASE AUTOANTIBODIES IN HUMAN SERUM R-CO-100 - 96 Determinations

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

### 1. CLINICAL APPLICATIONS

Thyroid autoimmunity is more frequently registered in women. Antibody prevalence in women increases with age, rising from approximately 10% at the age of 18-24 up to 30% at the age of 55-65 for TgAb and from 15% at the age of 18-24 up to 24% at the age of 55-65 for TPOAb.

### 2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The present method is based on a competitive radioimmunoassay (RIA). During the incubation, the monoclonal anti-TPO antibodies in solid phase competes with the sample/calibrator anti-TPO autoantibodies for the specific sites of the  $^{125}\text{I}$  labelled recombinant TPO (tracer). After aspiration and washing, the radioactivity in the tubes is measured in a gamma counter. The degree of binding will be inversely proportional to the sample anti-TPO autoantibodies concentration. The calibrators of anti-TPO auto-antibodies are calibrated on the TMAb international reference preparation MRC66/387.

### 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	Colour Code	Reconstitution
 Tubes coated with mouse monoclonal anti-TPO antibodies	2 x 48	Green	<b>Ready to Use</b>
Ag $^{125}\text{I}$ TRACER : Recombinant TPO tracer. Preservative: NaN3 (<0.1%)	1 Vial 22 ml $\pm 114 \text{ kBq}$	Red	<b>Ready to Use</b>
[CAL]0 Calibrator zero Preservative: NaN3 (<0.1%)	1 Vial 4.2 ml	Yellow	<b>Ready to Use</b>
[CAL]N Calibrator – N = 5 Anti-TPO (human serum). Preservative: NaN3 (<0.1%) (see exact values on vial labels)	5 Vials 0.7 ml	Yellow	<b>Ready to Use</b>
[CONTROL N] Control - N = 2 Anti-TPO (human serum). Preservative: NaN3 (<0.1%). (see exact values on vial labels)	2 Vials 0.7 ml	Silver	<b>Ready to Use</b>
WASH SOLN CONC Washing Solution (50 x concentrated) Tris-HCl buffer with detergent and preservative NaN3 (<0.1%).	1 Vial 20 ml	Brown	Bring to 1000 ml with distilled water

- **Controls & Calibrators :** For the exact value, refer to the value written on the vial label.
- **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 rpm.

### 5. WARNINGS AND PRECAUTIONS FOR USERS

#### 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  $^{125}\text{I}$  (half-life: 60 days) ,emitting ionizing X (28 keV) and  $\gamma$  (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

It is recommended to use serum. Highly lipemic or hemolyzed samples must be discarded. Keep samples at 2-8°C for 1 day; for longer periods it is advisable to freeze samples in aliquots at -20°C. Repeated freezing and thawing of samples should be avoided.

## 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 measurement is recommended
- Each well can only be used once.

1. Prepare plain tubes for Total Counts, and coated tubes for Calibrators, Samples and Controls.
2. Pipette **20 µl** of each Calibrator, Control Serum and Sample into the corresponding tubes.
3. Add **200 µl** of Radioactive Tracer into all tubes.
4. Incubate for **90 minutes** at room temperature (18-25°C) on an orbital shaker set at 150 rpm.
5. Aspirate the contents of each tube, except the tubes for Total Counts.
6. Add **2 ml** of diluted washing solution to every tube, except tubes for Total Counts and aspirate thoroughly or decant the contents of all tubes on absorbent paper.
7. 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.

### Note

If high anti-TPO values (> 1000 IU/ml) are expected for any patient sample, the original sample should be diluted. This dilution should be done using the zero calibrator.

**Do not use any other buffers for this purpose.**

## ASSAY SCHEME

Tubes Reagent	Total Activity	Calibrators	Controls	Samples
Calibrators	----	20 µl	----	----
Controls	----	----	20 µl	----
Samples	----	----	----	20 µl
Tracer	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Incubate: 90 min R.T. (18-25°C) shaking (150 rpm)				
- Aspirate - wash: 1 x 2 ml - aspirate				
- Count				

## 8. CALCULATION OF RESULTS

$$\text{Binding capacity} = \frac{B_0}{T} \times 100 = \frac{B_0 \text{ Cpm}}{T \text{ Cpm}} \times 100$$

Percent binding for Calibrators, Controls and Samples =

$$\text{Binding (\%)} = \frac{B}{B_0} \times 100 = \frac{\text{Calibrator or Sample Cpm}}{B_0 \text{ Cpm}} \times 100$$

Draw the calibration curve on log/logit graph by plotting the  $B/B_0 (\%)$  obtained for each calibrator (y-axis) against the relative concentration (x-axis). Calculate the  $B/B_0 (\%)$  of each sample and read the TPO Ab concentration in IU/ml, 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/B0 (%)	TPO Ab conc. (IU/ml)
Total Activity (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73.2	40
CAL 2	6798	45.3	80
CAL 3	4408	29.4	150
CAL 4	1693	11.3	400
CAL 5	606	4.0	1000
CONTROL 1	5481	36.5	108
CONTROL 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

### INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 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.

Lower than 60 IU/ml	Negative for anti-TPO auto-antibodies.
Between 60-80 IU/ml	Borderline
Higher than 80 IU/ml	Positive for anti-TPO auto-antibodies.

## 10. PERFORMANCE OF THE ASSAY

### SPECIFICITY

No cross-reactions have been observed with anti-thyroglobulin autoantibodies present in human serum.

### SENSITIVITY

#### Analytical sensitivity

The sensitivity was calculated based upon the calibration curve and expressed as the minimal dose showing a significant difference from the Zero Calibrator (mean value - 2 S.D.). This dose is 7.4 IU/ml.

#### Functional sensitivity

The functional assay sensitivity is the lowest value which is measured with a precision of max. 20% inter-assay variance. For the anti-TPO autoantibodies, this value is lower than 20 IU/ml.

### PRECISION

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

#### Intra-assay

Serum	Mean	± (IU/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	40.1	± 4.4	4.4	11.0	95
2	105	± 5.5	5.5	5.2	19
3	553	± 43.8	43.8	7.9	19

#### Inter-assay

Serum	Mean	± (IU/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	36.7	± 4.2	4.2	11.4	8
2	103	± 8.1	8.1	7.9	9
3	720	± 79.1	79.1	11.0	9

### ACCURACY

Accuracy of the method has been checked by the recovery and parallelism tests:

**Recovery Test**

Samples, mixed with equal volumes of each calibrator, were tested.

	<b>Expected (IU/ml)</b>	<b>Measured (IU/ml)</b>	<b>Recovery (%)</b>
S1	-	23.7	-
S1 + CAL 1	31.9	28.1	88.1
S1 + CAL 2	51.9	49.1	94.6
S1 + CAL 3	86.9	81.2	93.4
S1 + CAL 4	211.9	243	114.7
S2	-	32.9	-
S2 + CAL 1	36.5	28.9	79.2
S2 + CAL 2	56.5	45.9	81.2
S2 + CAL 3	91.5	76.2	83.3
S2 + CAL 4	216.5	240	110.9

**Parallelism Test**

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

<b>Dilution</b>	<b>Expected (IU/ml)</b>	<b>Measured (IU/ml)</b>	<b>Recovery (%)</b>
S1 undiluted	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
S2 undiluted	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/8	34.1	39.8	116.7

NB. Due to the heterogeneity of autoantibodies, for some patient samples a nonlinear dilution is possible

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

# FRANÇAIS

## MÉTHODE RADIO-IMMUNOLOGIQUE POUR LA DÉTERMINATION QUANTITATIVE DES ANTICORPS ANTI-THYROPEROXIDASE DANS LE SÉRUM HUMAIN

R-CO-100 - 96 Déterminations

UNIQUEMENT À USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

### 1. APPLICATIONS CLINIQUES

L'auto-immunité thyroïdienne se rencontre plus fréquemment chez la femme. La prévalence des anticorps chez la femme augmente avec l'âge, passant d'approximativement 10% entre 18 et 24 ans à 30% entre 55 et 65 ans pour les Ac anti-Tg et de 15% entre 18 et 24 ans à 24% entre 55 et 65 ans pour les Ac anti-TPO.

### 2. PRINCIPE DE L'ANALYSE

Cette méthode est basée sur un dosage radio-immunologique (RIA) par compétition. Durant l'incubation, les anticorps monoclonaux anti-TPO de la phase solide entrent en compétition avec les anticorps anti-TPO de l'échantillon/du calibrateur pour les sites spécifiques de la TPO recombinante marquée à l'<sup>125</sup>I (traceur). Après aspiration et lavage, la radioactivité présente dans les tubes est mesurée dans un compteur gamma. Le degré de liaison sera inversement proportionnel à la concentration des anticorps anti-TPO de l'échantillon. Les calibrateurs des anticorps anti-TPO sont calibrés par rapport à la préparation de référence internationale d'anticorps anti-TMAb MRC66/387.

### 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	Code couleur	Reconstitution
 Tubes coatés avec des anticorps monoclonaux anti-TPO de souris	2x48	Vert	Prêt à l'emploi
Ag  TRACEUR : TPO recombinante liquide Conservateur: NaN3 (<0.1%)	1 flacon 22 ml ± 114 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi
[CAL]0] Calibrateur zéro Conservateur: NaN3 (<0.1%)	1 flacon 4.2 ml	Jaune	Prêt à l'emploi
[CAL]N] Calibrateurs – N = 5 Anti-TPO (sérum humain), Conservateur: NaN3 (<0,1%). <i>(voir la valeur exacte sur les étiquettes des flacons)</i>	5 flacons 0.7 ml	Jaune	Prêt à l'emploi
[CONTROL N] Contrôle - N = 2 Anti-TPO (sérum humain) Conservateur: NaN3 (<0.1%) <i>(voir la valeur exacte sur les étiquettes des flacons)</i>	2 flacons 0.7 ml	Argent	Prêt à l'emploi
WASH SOLN CONC Solution de lavage (concentrée 50 x) tampon Tris-HCl avec un détergent et un conservateur NaN3 (<0,1%)	1 flacon 20ml	Brun	1000 ml avec de l'eau distillée

- Contrôles et Calibrateurs:** Pour la valeur exacte, se référer à l'étiquette du flacon.
- 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. MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- 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 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'<sup>125</sup>I (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

Il est recommandé d'utiliser du sérum. Les échantillons hyperlipémiques ou hémolysés doivent être écartés. Conserver les échantillons à 2-8°C pour 1 jour; pour une plus longue période il est conseillé de congeler les échantillons à -20°C. La congélation et la décongélation des échantillons devraient être évitées.

## 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.
  - Chaque puits ne peut être utilisé qu'une seule fois.
1. Préparer des tubes non coatés pour l'activité totale et des tubes coatés pour les calibrateurs, les échantillons et les contrôles.
  2. Pipeter **20 µl** de chaque calibrateur, contrôle et échantillon dans les tubes correspondants.
  3. Ajouter **200 µl** du traceur radioactif dans tous les tubes.
  4. Mélanger les tubes au vortex et incuber pendant **90 minutes** à température ambiante (18-25°C) sur un agitateur orbital réglé à 150 tpm.
  5. Aspirer le contenu de chacun des tubes excepté les tubes pour l'activité totale.
  6. Ajouter **2 ml** de solution de lavage diluée à chacun des tubes excepté les tubes pour l'activité totale et aspirer à fond ou décanter le contenu de tous les tubes sur du papier absorbant.
  7. 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.

### Note

Si l'on s'attend à des valeurs élevées d'anti-TPO (> 1000 UI/ml) pour un échantillon de patient, l'échantillon de départ doit être dilué. Cette dilution doit être réalisée avec le calibrateur zéro.

**Ne pas utiliser d'autres tampons à cet effet.**

## SCHÉMA DU DOSAGE

Tubes Réactif	Activité Totale	Calibrateurs	Contrôle	Échant.
Calibrateur	---	20 µl	---	---
Contrôles	---	---	20 µl	---
Échantillons	---	----	----	20 µl
Traceur	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Incubation: 90 min. T° ambiante (18-25°C) sous agitation (150 tpm)  
- Aspiration - lavage : 1 x 2 ml - aspiration  
- Comptage

## 8. CALCUL DES RESULTATS

$$\text{Capacité de liaison} = \frac{B_0}{T} \times 100 = \frac{\text{Cpm du } B_0}{\text{Cpm du } T} \times 100$$

$$\text{Pourcentage de liaison pour les Calibrateurs, Contrôles et échantillons} = \frac{B}{B_0} \times 100 = \frac{\text{Cpm du Calibrateur ou de l'échantillon}}{\text{Cpm du } B_0} \times 100$$

Tracer la courbe d'étalonnage sur un papier logarithmique en plaçant le B/B<sub>0</sub> (%) obtenu pour chacun des calibrateurs (axe des y) en fonction de la concentration relative (axe des x). Calculer le B/B<sub>0</sub> (%) de chacun des échantillons et lire la concentration des Ac anti-TPO en UI/ml par interpolation sur la courbe d'étalonnage.

## 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/B <sub>0</sub> (%)	Conc. en Ac anti-TPO (UI/ml)
Activité totale (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73,2	40
CAL 2	6798	45,3	80
CAL 3	4408	29,4	150
CAL 4	1693	11,3	400
CAL 5	606	4,0	1000
CONTRÔLE 1	5481	36,5	108
CONTRÔLE 2	1926	12,8	353
P1	10736	71,6	40,7
P2	4085	27,2	157
P3	1037	6,9	629

## CONTRÔLE 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 ses propres intervalles de référence. Les valeurs rapportées ci-dessous le sont seulement à titre indicatif.

Inférieur à 60 UI/ml	Négatif pour les auto-anticorps anti-TPO.
Entre 60 et 80 UI/ml	Limite
Supérieur à 80 UI/ml	Positif pour les auto-anticorps anti-TPO.

## 10. PERFORMANCE DU DOSAGE

### SPÉCIFICITÉ

Aucune réaction croisée n'a été observée avec les auto-anticorps anti-thyroglobuline présents dans le sérum humain.

### SENSIBILITÉ

#### Sensibilité analytique

La sensibilité a été calculée sur base de la courbe d'étalonnage et représente la dose minimale montrant une différence significative avec le Calibreur Zéro (valeur moyenne - 2 D.S.). Cette dose est 7,4 UI/ml.

#### Sensibilité fonctionnelle

La sensibilité fonctionnelle d'analyse est la valeur la plus basse qui est mesurée avec une précision de maximum 20% de la variation inter-analyse. Pour les auto-anticorps anti-TPO, cette valeur est 20 UI/ml.

### PRÉCISION

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

#### Intra-analyse

Sérum	Moyenne ± (UI/ml)	D.S.	C.V. (%)	N
1	40,1	± 4,4	11,0	95
2	105	± 5,5	5,2	19
3	553	± 43,8	7,9	19

## Inter-analyse

Sérum	Moyenne ± (UI/ml)	D.S.	C.V. (%)	N
1	36,7	± 4,2	11,4	8
2	103	± 8,1	7,9	9
3	720	± 79,1	11,0	9

## EXACTITUDE

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

### Test de récupération

Des échantillons, mélangés à des volumes égaux de chaque calibrateur, ont été testés.

Ajouté	Prévu (UI/ml)	Mesuré (UI/ml)	Récupération (%)
S1	-	23,7	-
S1 + CAL 1	31,9	28,1	88,1
S1 + CAL 2	51,9	49,1	94,6
S1 + CAL 3	86,9	81,2	93,4
S1 + CAL 4	211,9	243	114,7
S2	-	32,9	-
S2 + CAL 1	36,5	28,9	79,2
S2 + CAL 2	56,5	45,9	81,2
S2 + CAL 3	91,5	76,2	83,3
S2 + CAL 4	216,5	240	110,9

### Test de parallélisme.

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

Dilution	Prévu (UI/ml)	Mesuré (UI/ml)	Récupération (%)
S1 non dilué	-	857	-
1/2	428	418	97,7
1/4	214	248	115,9
1/8	107	126	117,8
1/16	53,5	64	119,6
S2 non dilué	-	273	-
1/2	136	136	100,0
1/4	68,1	60,0	88,1
1/8	34,1	39,8	116,7

NB. Étant donné l'hétérogénéité des auto-anticorps, une dilution non linéaire peut être observée pour les échantillons de certains patients

# NEDERLANDS

## RADIO-IMMUNOASSAY VOOR DE KWANTITATIEVE BEPALING VAN AUTO-ANTILICHAMEN VOOR ANTI-TYROPEROXIDASE IN HUMAAN SERUM R-CO-100 – 96 tests

### UITSLUITEND VOOR DIAGNOSTISCH GEBRUIK IN VITRO

#### 1. KLINISCHE TOEPASSINGEN

Bij vrouwen komt schildklier-auto-immunitéit vaker voor. Bij vrouwen neemt de prevalentie van antilichamen toe met de leeftijd: voor TgAb stijgt die van ongeveer 10% bij een leeftijd van 18 – 24 jaar tot 30% bij een leeftijd van 55 – 65 jaar en voor TPOAb van 15% bij een leeftijd van 18 – 24 jaar tot 24% bij een leeftijd van 55 – 65 jaar.

#### 2. PRINCIPE VAN DE ASSAY

Deze methode is gebaseerd op een competitieve radio-immunoassay (RIA). Tijdens de incubatie concurrenren de monoklonale anti-TPO antilichamen op een vaste fase met de anti-TPO autoantilichamen van het monster/de kalibrator voor de specifieke plaatsen van met  $^{125}\text{I}$  gelabelde recombinant TPO (tracer). Na het opzuigen en het wassen wordt de radioactiviteit in de buisjes in een gammateller gemeten. De mate van binding zal omgekeerd evenredig zijn met de concentratie van het anti-TPO autoantilichaam van het monster. De kalibratoren van autoantilichamen voor anti-TPO worden gekalibreerd tegenover het internationale referentiepreparaat MRC66/387 van TMAb.

#### 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	Kleur-code	Reconstitutie
 Buisjes gecoat met muis-monoklonaal anti-TPO antilichamen	2x48	Groen	<b>Klaar voor gebruik</b>
Ag <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">125I</span>  TRACER : vloeibare recombinant TPO-tracer Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%)	1 flacon 22 ml $\pm 114 \text{ kBq}$	Rood	<b>Klaar voor gebruik</b>
[CAL]0  NulKalibrator Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%)	1 flacon 4.2 ml	Geel	<b>Klaar voor gebruik</b>
[CAL]N  Kalibrators – N = 5 Anti-TPO (humaan serum) Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%) (zie exacte waarde op flaconlabels)	5 flacons 0.7 ml	Geel	<b>Klaar voor gebruik</b>
[CONTROL N]  Controle - N = 2 Anti-TPO (humaan serum) Bewaarmiddel: NaN3 (< 0,1%) (zie exacte waarde op flaconlabels)	2 flacons 0.7 ml	Zilver	<b>Klaar voor gebruik</b>
WASH    SOLN    CONC  Wasoplossing (50 x geconcentreerd) TRIS-HCl-buffer met detergents. Bewaarmiddel: NaN3 < 0,1%	1 flacon 20 ml	Bruin	1.000 ml met gedestilleerd water

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

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 houdbaar bij 2 – 8 °C.

#### 4. VEREISTE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

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

#### 5. WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAT-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  $^{125}\text{I}$  (halfwaardetijd: 60 dagen), dat ioniserende X- (28 keV) en y-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 gescregeerd 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 conservermiddeel) 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

Enkel een serummonster mag worden gebruikt. In hoge mate lipemische of gehemolyseerde monsters moeten worden afgevoerd. Bewaar monsters gedurende 1 dag bij 2 – 8 °C. Indien de monsters gedurende langere tijd worden bewaard, verdient het aanbeveling ze in aliquots in te vriezen bij -20 °C. De monsters herhaaldelijk invriezen en ontdooken dient te worden vermeden.

## 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.
  - Elke put kan slechts eenmaal worden gebruikt.
1. Bereid onbehandelde buisjes voor de totaaltellingen en gecoate buisjes voor de kalibratoren, de monsters en de controles.
  2. Pipetteer **20 µl** van elke kalibrator, elk controleserum en elk monster in de betreffende buisjes.
  3. Voeg aan alle buisjes **200 µl** radioactieve tracer toe.
  4. Incubeer gedurende 90 minuten bij kamertemperatuur (18-25°C) op een rondschedapparaat, ingesteld op 150 toeren per minuut.
  5. Zuig de inhoud van elk buisje (met uitzondering van de buisjes voor de totaaltellingen) op.
  6. Voeg **2 ml** van de verdunne wasoplossing aan elk buisje (met uitzondering van de buisjes voor de totaaltellingen) toe en zuig grondig op of giet de inhoud van alle buisjes over op absorberend papier.
  7. 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.

### Opmerking

Indien hoge anti-TPO-waarden (> 1.000 IU/ml) worden verwacht voor een monster van een patiënt dient het oorspronkelijke monster te worden verduld. Deze verdunning dient met behulp van een nukalibrator te worden uitgevoerd.

**Geen andere buffers hiervoor gebruiken.**

## SCHEMA VAN DE ASSAY

Buisjes Reagens	Totale activiteit	Kalibratoren	Controles	Monsters
Kalibratoren	----	20 µl	----	----
Controles	----	----	20 µl	----
Monsters	----	----	----	20 µl
Tracer	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Meng en incubeer gedurende 90 min bij kamertemperatuur (18-25°C) op een rondschedapparaat (150 toeren per minuut).  
- Zuig op of giet over - was: 1 x met 2 ml – zuig op of giet over  
- Tel.

## 8. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

$$\text{Bindingscapaciteit} = \frac{B_0}{T} \times 100 = \frac{B_0 \text{ cpm}}{T \text{ cpm}} \times 100$$

Bindingspercentage voor kalibratoren, controles en monsters =

$$\% \text{ binding} = \frac{B}{B_0} \times 100 = \frac{\text{Kalibrator or monster cpm}}{B_0 \text{ cpm}} \times 100$$

Teken de kalibratiecurve op dubbellogaritmisch millimeterpapier door het voor elke kalibrator verkregen  $B/B_0$  (%) (y-as) uit te zetten tegen de relatieve concentratie (x-as). Bereken voor elk monster het  $B/B_0$  (%) en lees de TPO Ab-concentratie in E/ml af op de kalibratiecurve door te interpoleren.

## VOORBEELD VOOR BEREKENING

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

Beschrijving	Gemiddelde cpm	B/B₀ (%)	TPO Ab-conc. (IU/ml)
Totale activiteit (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73.2	40
CAL 2	6798	45.3	80
CAL 3	4408	29.4	150
CAL 4	1693	11.3	400
CAL 5	606	4.0	1000
CONTROL 1	5481	36.5	108
CONTROL 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

## 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 controlematerialen 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 referentieinterval bepaalt. De hieronder vermelde waarden dienen uitsluitend als richtlijn.

Minder dan 60 IU/ml:	Negatief voor autoantilichamen voor anti-TPO.
Tussen 60 – 80 IU/ml:	Grensgeval
Meer dan 80 IU/ml:	Positief voor autoantilichamen voor anti-TPO.

## 10. EIGENSCHAPPEN VAN DE ASSAY

### SPECIFICITEIT

Er werden geen kruisreacties waargenomen met autoantilichamen voor anti-thyreoglobuline, aanwezig in humaan serum.

### GEVOELIGHEID

#### Analytische gevoeligheid

De gevoeligheid werd berekend op basis van de kalibratiecurve en werd uitgedrukt als de minimumdosis die een significant verschil laat zien ten opzichte van de nukalibrator (gemiddelde waarde - 2 SD). Deze dosis bedraagt 7.4 IU/ml.

#### Functionele gevoeligheid

De functionele assaygevoeligheid is de laagste waarde die wordt gemeten met een precisie die een variatie van maximaal 20% tussen de tests toelaat. Voor de autoantilichamen voor anti-TPO bedraagt deze waarde minder dan 20 IU/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 ± (IU/ml)	SD	VC (%)	N
1	40.1	± 4.4	11.0	95
2	105	± 5.5	5.2	19
3	553	± 43.8	7.9	19

## Tussen tests

Serum	Gemiddelde (IU/ml)	$\pm$	SD	VC (%)	N
1	36.7	$\pm$	4.2	11.4	8
2	103	$\pm$	8.1	7.9	9
3	720	$\pm$	79.1	11.0	9

## NAUWKEURIGHEID

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

## Recovery-test

Monsters, gemengd met een gelijke hoeveelheid van elke kalibrator, werden getest.

	Verwacht (IU/ml)	Gemeten (IU/ml)	Recovery (%)
M1	-	23.7	-
M1 + KAL 1	31.9	28.1	88.1
M1 + KAL 2	51.9	49.1	94.6
M1 + KAL 3	86.9	81.2	93.4
M1 + KAL 4	211.9	243	114.7
M2	-	32.9	-
M2 + KAL 1	36.5	28.9	79.2
M2 + KAL 2	56.5	45.9	81.2
M2 + KAL 3	91.5	76.2	83.3
M2 + KAL 4	216.5	240	110.9

## Parallelismetest

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

Verdunning	Verwacht (IU/ml)	Gemeten (IU/ml)	Recovery (%)
M1 onverdund	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
M2 onverdund	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/16	34.1	39.8	116.7

Opmerking: Vanwege de heterogeniteit van de autoantilichamen is voor een aantal monsters afkomstig van de patiënt een niet-lineaire verdunning mogelijk.

# DEUTSCH

## RADIOIMMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON ANTI-THYREOPEROXIDASE- AUTOANTIKÖRPER IN HUMANEM SERUMS R-CO-100 - 96 Bestimmungen

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

### 1. KLINISCHE ANWENDUNGEN

Autoimmune Schilddrüsenerkrankungen sind bei Frauen häufiger festzustellen. Die Verbreitung der Antikörper bei Frauen steigt mit dem Alter: Im Alter von 18-24 um ca. 10%, im Alter von 55-65 um ca. 30% für TgAb. Für TPO Ab im Alter von 18-24 um ca. 15%, im Alter von 55-65 um ca. 24%.

### 2. TESTPRINZIP

Die vorliegende Methode basiert auf dem kompetitiven Radioimmunoassay (RIA). Während der Inkubation konkurrieren der monoklonale Anti-TPO Antikörper in der festen Phase mit den Anti-TPO Autoantikörpern der Kalibratoren oder der Probe um spezifische Bindungsstellen des mit  $^{125}\text{I}$  markierten rekombinannten TPO (Tracer). Nach Absaugen und Waschen wird die Radioaktivität in den Röhrchen in einem Gammazähler gemessen. Die gebundene Radioaktivität steht in umgekehrten Verhältnis zur Anti-TPO Autoantikörperf Konzentration der Proben. Die Kalibratoren des Anti-TPO Autoantikörpertests wurden gegen den TMAB Standard MRC66/387 standardisiert.

### 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 Test Kit	Farocode	Rekonstitution
	2x48	Grün	Gebrauchsfertig
Ag $^{125}\text{I}$ TRACER : rekombinant TPO-Tracer und NaN3 <0,1%	1 Fläschchen 22 ml $\pm 114 \text{ kBq}$	Rot	Gebrauchsfertig
[CAL]0] NullKalibrator NaN3(<0,1%).	1 Fläschchen 4.2 ml	Gelb	Gebrauchsfertig
[CAL]N] Kalibrator – N = 5 Anti-TPO in humanem Serum, außerdem noch NaN3 <0,1 % (zie exakte waarde op flaconlabels)	5 Fläschchen 0.7 ml	Gelb	Gebrauchsfertig
[CONTROL N] Kontrolle - N = 2 Anti-TPO in humanem Serum und NaN3 < 0,1%. (zie exakte waarde op flaconlabels)	2 Fläschchen 0.7 ml	Silber	Gebrauchsfertig
WASH SOLN CONC Waschlösung (50 x konzentriert) TRIS HCl Puffer mit Detergenten. Konservierungsmittel: NaN3 < 0,1 %.	1 Fläschchen 20ml	Braun	destilliertem Wasser auf 1000 ml

1. **Kontrollen und Kalibratoren:** Die Sollwerte entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett.
2. **Beschichtete Röhrchen:** Unbenutzte Röhrchen müssen bei 2-8°C, geschützt vor Feuchtigkeit, aufbewahrt werden.
3. **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 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.
- Vermeiden 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  $^{125}\text{I}$  (Halbwertszeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und y (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 Laborausrüstung 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 Waschschritte 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

Verwenden Sie nur Serumproben. Hoch lipämische oder hämolytische Proben müssen verworfen werden. Die Proben können bei 2– 8°C 1 Tag aufbewahrt werden; bei längeren Zeiträumen ist es empfehlenswert, die Proben aliquotiert bei – 20°C einzufrieren. Ein wiederholtes Einfrieren oder Auftauen sollte vermieden werden.

## 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.
  - Elke put kan slechts eenmaal worden gebruikt.
1. Bereiten Sie sich leere Röhrchen für die Total Counts und beschichtete Röhrchen für die Kalibratoren, Proben und Kontrollen vor.
  2. Pipettieren Sie **20 µl** des jeweiligen Kalibrators, der Kontrollen und der Proben in die dafür vorgesehenen Röhrchen.
  3. Geben Sie in alle Röhrchen 200µl des radioaktiven Tracers.
  4. Inkubieren Sie die Röhrchen 90 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) auf einem Orbitaschüttler bei 150 rpm.
  5. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab, außer den Röhrchen für die Total Counts.
  6. Geben Sie **2 ml** verdünnter Waschlösung in jedes Röhrchen, außer in denen für die Total Counts, und saugen Sie gründlich ab oder gießen Sie die Inhalte aller Röhrchen auf absorbierendes Papier.
  7. Zählen Sie die an die Röhrchen 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.

**Anmerkung:** Falls hohe Anti-TPO-Werte (>1000 IU/ml) für einige Patientenproben erwartet werden, müssen die Originalproben verdünnt werden. Die Verdünnung muß mit dem Nullkalibrator durchgeführt werden.

**Benutzen Sie zu diesem Zweck keinen anderen Puffer.**

## VERSUCHSSCHEMA

Röhrchen Reagenzien	Total- aktivität	Kalibratoren	Kontrolle	Proben
Kalibratoren	---	20 µl	---	---
Kontrolle	---	---	20 µl	---
Proben	---	---	---	20 µl
Tracer	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Inkubieren: 90 min R.T. (18-25°C), Schütteln (150 rpm) - Absaugen - Waschen: 1x 2ml - Absaugen - Zählen				

## 8. KALKULATION DER RESULTATE

$$\text{Bindungskapazität} = \text{Bo/T\%} = \text{Bo cpm} / \text{T cpm} \times 100$$

gebundener Prozentsatz für Kalibratoren, Kontrollen, Proben =

$$\text{Bindungen\%} = \text{B/Bo\%} = \text{Kalibratoren oder Proben cpm} / \text{Bo cpm} \times 100$$

Ermitteln Sie die Eichkurve durch logarithmisches Auftragen (log/lin) von B/Bo% von jedem Kalibrator (y-Achse) gegen die relative Konzentration (x-Achse). Errechnen Sie den B/Bo% von jeder Probe und lesen Sie die TPO Ab Konzentration in IU/ml durch Interpolation an der Eichkurve ab.

## KALKULATIONSBEISPIEL

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

Beschreibung	Durchschnittlicher cpm	B/B <sub>0</sub> (%)	TPO Ab (IU/ml)
Totalaktivität (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73.2	40
CAL 2	6798	45.3	80
CAL 3	4408	29.4	150
CAL 4	1693	11.3	400
CAL 5	606	4.0	1000

Beschreibung	Durchschnittlicher cpm	B/B <sub>0</sub> (%)	TPO Ab (IU/ml)
CONTROL 1	5481	36.5	108
CONTROL 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

## INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den 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 Werte sind lediglich indikativ.

Niedriger als 60 IU/ml	Negativ für Anti-TPO Auto-Antikörper.
zwischen 60–80 IU/ml	Grenzwert
Höher als 80 IU/ml:	Positiv für Anti-TPO Auto-Antikörper.

## 10. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

### SENSITIVITÄT

#### Analytische Sensitivität

Die Sensitivität war basierend auf der Eichkurve kalkuliert und so ausgedrückt, dass kleinste Dosierungen einen signifikanten Unterschied zum Nullkalibrator ergeben ( Mittelwert - 2fache Standardabweichung ). Diese Dosierung ist 7,4 IU/ml.

#### Funktionale Sensitivität

Die funktionale Testsensitivität ist der niedrigste Wert, der mit einer Präzision von maximal 20% Inter-Assay Varianz gemessen wird. Bei den Anti-TPO Autoantikörpern ist dieser Wert kleiner als 20 IU/ml.

### PRÄZISION

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

#### Intra-assay

Serum	durchschnittliche ± (IU/ml)	S.D.	V.K. %	N
1	40.1	± 4.4	11.0	95
2	105	± 5.5	5.2	19
3	553	± 43.8	7.9	19

## Inter-assay

Serum	durchschnittliche (IU/ml)	±	S.D.	V.K. %	N
1	36.7	±	4.2	11.4	8
2	103	±	8.1	7.9	9
3	720	±	79.1	11.0	9

## GENAUIGKEIT

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

### Wiederfindungs - Test

Proben, vermischt mit den gleichen Volumina jedes Kalibrators, werden getestet.

	erwartete Werte (IU/ml)	gemessene Werte (IU/ml)	Wiederfindung (%)
S1	-	23.7	-
S1 + KAL 1	31.9	28.1	88.1
S1 + KAL 2	51.9	49.1	94.6
S1 + KAL 3	86.9	81.2	93.4
S1 + KAL 4	211.9	243	114.7
S2	-	32.9	-
S2 + KAL 1	36.5	28.9	79.2
S2 + KAL 2	56.5	45.9	81.2
S2 + KAL 3	91.5	76.2	83.3
S2 + KAL 4	216.5	240	110.9

### Parallel – Test

Seren mit hohen, analytischen Konzentrationen werden mit unterschiedlichen Verdünnungen mit dem Nullkalibrator getestet.

Verdünnung	erwartete Werte (IU/ml)	gemessene Werte (IU/ml)	Wiederfindung %
S1 unverdünnt	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
S1 unverdünnt	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/8	34.1	39.8	116.7

**Anmerkung:** Aufgrund der Heterogenität von Autoantikörpern ist für einige Patientenproben eine nichtlineare Verdünnung geeignet.

# ITALIANO

## DOSAGGIO RADIOIMMUNOMETRICO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DEGLI AUTOANTICORPI ANTI-TIREOPEROSSIDASI NEL SIERO UMANO R-CO-100 – 96 Determinazione

### SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

#### 1. APPLICAZIONI CLINICHE

L'autoimmunità tiroidea è più frequentemente riscontrata nelle donne. La prevalenza degli anticorpi nelle donne aumenta con l'età, passando da circa il 10% all'età di 18-24 fino al 30% all'età di 55-65 per TgAb e dal 15% all'età di 18-24 fino al 24% all'età di 55-65 per TPOAb.

#### 2. PRINCIPIO DEL METODO

Il presente metodo si basa su un dosaggio radioimmunometrico (RIA) competitivo. Durante l'incubazione, gli anticorpi monoclonali anti-TPO adsorbiti sulla fase solida competono con gli auto-anticorpi anti-TPO del campione/calibratore per i siti specifici del ricombinante TPO marcato con  $^{125}\text{I}$  (tracciante). Dopo l'aspirazione ed il lavaggio, viene misurata la radioattività della provetta con un contatore gamma. Il grado di legame sarà inversamente proporzionale alla concentrazione degli auto-anticorpi anti-TPO del campione. I calibratori degli autoanticorpi anti-TPO sono calibrati sulla preparazione di riferimento internazionale TMAB MRC66/387.

#### 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 tests	Codice colore	Volume di ricostituzione
 Provette sensibilizzate con anticorpi monoclonali di topo anti-TPO.	2x48	verde	<b>Pronta per l'uso</b>
 RADIOMARCATO: tracciante ricombinante TPO liquido Conservante: NaN3 (<0.1%)	1 flaconcino 22 ml $\pm 114 \text{ kBq}$	rosso	<b>Pronta per l'uso</b>
[CAL]0] Calibratore zero Conservante: NaN3 (<0.1%)	1 flaconcino 4.2 ml	giallo	<b>Pronta per l'uso</b>
[CAL]N] Calibratore - N = 5 anti-TPO (siero umano), Conservante: NaN3 (<0.1%) (vedere il valore esatto sulle etichette della fiala)	5 flaconcini 0.7 ml	giallo	<b>Pronta per l'uso</b>
[CONTROL N] Controlli - N = 2 Anti-TPO (siero umano) Conservante: NaN3 (<0.1%) (vedere il valore esatto sulle etichette della fiala)	2 flaconcino 0.7 ml	argento	<b>Pronta per l'uso</b>
WASH SOLN CONC Soluzione di Lavaggio (concentrata 50X) Tampone Tris-HCl con detergente e conservante (NaN3 : <0,1%)	1 flaconcino 20ml	Marrone	1000 ml con acqua distillata

- Sieri di Controllo e Calibratori:** Per la concentrazione esatta, fare riferimento al valore indicato sull'etichetta della fiala.
- Provette Sensibilizzate:** Le provette non utilizzate vanno custodite ad una temperatura di 2-8°C al riparo dall'umidità.
- 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 giri/min.

#### 5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI D'USI

adottate per altri campioni di siero o di plasma al Biosafety Level 2 e secondo le disposizioni del manuale sanitario CDC (Centers for Disease Control/National Institutes of Health), "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 3<sup>rd</sup> Edizione, 1993.

Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza (MSDS)

#### 6. RACCOLTA DEI CAMPIONI

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  $^{125}\text{I}$  (emivita: 60 giorni), un materiale radioattivo emettente radiazioni ionizzanti X (28 keV) e  $\gamma$  (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).

## 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.
- Ogni pozzetto può essere utilizzato solo una volta.

1. Preparare provette non sensibilizzate per l'Attività Totale e provette sensibilizzate per i Calibratori, i Campioni ed i Sieri di Controllo.
2. Dispensare **20 µl** di ciascun Calibratore, Siero di Controllo e Campione nella rispettiva provetta.
3. Aggiungere **200 µl** di Tracciante Radioattivo in tutte le provette.
4. Incubare per **90 minuti** a temperatura ambiente (18-25°C) in agitazione a 150 giri/min.
5. Aspirare i contenuti di ogni provetta, ad eccezione di quelle dell'Attività Totale.
6. Aggiungere 2 ml di Soluzione di Lavaggio diluita in ogni provetta, ad eccezione delle provette dell' Attività Totale ed aspirare o decantare i contenuti di tutte le provette su della carta assorbente.
7. Misurare la radioattività di ogni provetta per 1 minuto con un contatore gamma. Si consiglia di controllare il background dello strumento prima di effettuare la conta per il dosaggio. Per evitare variazioni di sensibilità nel sistema, è necessario che il background sia ridotto al minimo o opportunamente corretto.

### Nota

Se per qualche paziente sono attesi elevati valori di anti-TPO (> 1000 IU/ml), il campione originale dovrebbe essere diluito. Questa diluizione va eseguita utilizzando il calibratore zero. Non usare altri tamponi a questo scopo.

## SCHEMA DEL DOSAGGIO

Provette Reagente	Conta Totale	Calibratori	Sieri Controllo	Campioni
Calibratori	----	20 µl	----	----
Sieri	----	----	20 µl	----
Controllo	----	----	----	20 µl
Campioni	----	----	----	200 µl
Tracciante	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Incubazion : 90 min T.A. (18-25°C) in agitazione (150 giri/min.)  
- Aspirazione - lavaggio 1x2ml - aspirazione  
- Contare la radioattività delle provette per un minuto con un contatore gamma

## 8. CALCOLO DEI RISULTATI

$$\text{Capacità legante} = \frac{B_0}{T} \times 100 = \frac{\text{Cpm } B_0}{\text{Cpm } T} \times 100$$

Percentuale di legame per i Calibratori, Sieri Controllo e Campioni =

$$\text{Legame (\%)} = \frac{B}{B_0} \times 100 = \frac{\text{Cpm Calibratore o Campione}}{\text{Cpm } B_0} \times 100$$

Disegnare la curva di calibrazione su carta millimetrata log/logit riportando sull'asse Y i valori di B/Bo(%) di ciascun calibratore e sull'asse X il relativo valore di concentrazione. Calcolare la B/Bo(%) di ogni campione e leggere la concentrazione di anti-TPO espressa in IU/ml, mediante interpolazione sulla curva di calibrazione.

## ESEMPIO DI CALCOLO

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

Descrizione	Media cpm	B/B0 (%)	Conc. TPO Ab- (IU/ml)
Conta Totale (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73.2	40
CAL 2	6798	45.3	80
CAL 3	4408	29.4	150
CAL 4	1693	11.3	400
CAL 5	606	4.0	1000
SIERO CONTROLLO 1	5481	36.5	108
SIERO CONTROLLO 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

## CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all'interno dei limiti riportati, 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'aliquote 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 raccomanda ad ogni laboratorio di determinare il proprio intervallo di riferimento. I valori nella tabella seguente sono riportati soltanto a titolo indicativo.

< 60 IU/ml:	Negativo per gli autoanticorpi anti-TPO.
60-80 IU/ml	Borderline
> 80 IU/ml:	Positivo per gli autoanticorpi anti-TPO.

## 10. CARATTERISTICHE METODOLOGICHE

### SPECIFICITA'

Nessuna reazione crociata è stata osservata con gli auto-anticorpi anti-tireoglobulina presenti nel siero umano.

### SENSIBILITA'

Sensibilità analitica

La sensibilità è stata calcolata sulla curva di calibrazione ed è definita come la dose minima significativamente distinguibile dalla risposta del Calibratore Zero (valore medio - 2 D.S.). Questa dose è pari a 7.4 IU/ml.

### Sensibilità funzionale

La sensibilità funzionale del metodo è espressa dal valore più basso misurato con una precisione massima del 20 % della varianza intersaggio. Per gli autoanticorpi anti-TPO tale valore è inferiore a 20 IU/ml.

### ACURATEZZA

La precisione è stata valutata in base alla variabilità dell'intra-saggio e dell'inter-saggio, a differenti concentrazioni analitiche.

### Intra-saggio

Siero	Media	± (IU/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	40.1	± 4.4	11.0	95	
2	105	± 5.5	5.2	19	
3	553	± 43.8	7.9	19	

### Inter-saggio

Siero	Media	± (IU/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	36.7	± 4.2	11.4	8	
2	103	± 8.1	7.9	9	
3	720	± 79.1	11.0	9	

## PRECISIONE

La precisione del metodo è stata valutata tramite il test di recupero e di parallelismo

### Test di recupero

I campioni sono stati addizionati di quantità uguali di ciascun calibratore e dosati.

	Atteso (IU/ml)	Misurato (IU/ml)	Recupero (%)
S1	-	23.7	-
S1 + CAL 1	31.9	28.1	88.1
S1 + CAL 2	51.9	49.1	94.6
S1 + CAL 3	86.9	81.2	93.4
S1 + CAL 4	211.9	243	114.7
S2	-	32.9	-
S2 + CAL 1	36.5	28.9	79.2
S2 + CAL 2	56.5	45.9	81.2
S2 + CAL 3	91.5	76.2	83.3
S2 + CAL 4	216.5	240	110.9

### Test di parallelismo

Sieri ad elevata concentrazione di analita sono stati testati a varie diluizioni con il Calibratore Zero

Diluizione	Atteso (IU/ml)	Misurato (IU/ml)	Recupero (%)
S1 non diluito	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
S1 non diluito	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/16	34.1	39.8	116.7

**NOTA:** per alcuni campioni a causa dell'eterogeneità degli autoanticorpi è possibile ottenere una diluizione non lineare.

# ESPAÑOL

RADIOIMMUNOANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE AUTOANTICUERPOS ANTITIROPEROXIDASA EN SUERO HUMANO  
R-CO-100 - 96 determinaciones

SÓLO PARA USO EN DIAGNÓSTICOS IN VITRO

## 1. APLICACIONES CLÍNICAS

La autoinmunidad tiroidea se registra con mayor frecuencia en las mujeres. La prevalencia de anticuerpos en las mujeres aumenta con la edad, pasando desde un 10% entre los 18-24 años hasta un 30% a la edad de 55-65 por lo que respecta al índice de TgAb, y desde un 15% entre los 18-24 años hasta un 24% a la edad de 55-65, por lo que se refiere al índice de TPOAb.

## 2. PRINCIPIO DEL ANÁLISIS

El presente método está basado en un radioimmunoanálisis (RIA) competitivo. Durante la incubación, los anticuerpos monoclonales anti-TPO en fase sólida compiten con los autoanticuerpos anti-TPO de muestra/calibrador por los lugares específicos de recombinación TPO marcada con  $I^{125}$  (trazador). Tras la aspiración y el lavado, se mide la radiactividad de los tubos con un contador gamma. El grado de unión será inversamente proporcional a la concentración de autoanticuerpos anti-TPO de la muestra. Los calibradores de autoanticuerpos anti-TPO se calibran con respecto a la preparación de referencia internacional de TMAb MRC 66/387.

## 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	Código de color	Reconstitución
Tubos recubiertos anticuerpos anti-TPO monoclonales de ratón	2x48	Verde	<b>Lista para usar</b>
Ag $I^{125}$ Trazador : trazador de recombinación TPO líquido. Conservante: NaN3 (<0,1%).	1 Vial 22 ml $\pm 114$ kBq	Rojo	<b>Lista para usar</b>
[CAL]0] Calibrador cero Conservante: NaN3 (<0,1%)	1 Vial 4.2 ml	Amarillo	<b>Lista para usar</b>
[CAL]N] Calibradores – N = 5 Anti-TPO (suero humano). Conservante: NaN3 (<0,1%). (ver el valor exacto en las etiquetas del vial)	5 Viales 0.7 ml	Amarillo	<b>Lista para usar</b>
[CONTROL N] Control - N = 2 Anti-TPO (suero humano) Conservante: NaN3 (<0,1%) (ver el valor exacto en las etiquetas del vial)	2 Viales 0.7 ml	Plata	<b>Lista para usar</b>
WASH    SOLN    CONC Solución de lavado (concentración x 50) Támpón TRIS-HCl con detergente Conservante: NaN3 < 0,1%	1 Vial 20ml	Marrón	Disolver en agua destilada 1000ml

- **Controles y Calibradores:** Para conocer el valor exacto, consulte la etiqueta del vial
- **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 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  $I^{125}$  (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos  $\gamma$  (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 isotópicos.

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 contenido substancias 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 pipetejar 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

Sólo se pueden utilizar muestras de suero. Deberán descartarse las muestras de alto contenido lipídico o hemolizadas. Las muestras pueden mantenerse a 2-8°C durante 1 día; para períodos más largos se recomienda congelar las muestras en porciones alícuotas a -20°C. Debe evitarse la congelación y descongelación repetida de las muestras.

## 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.
- Cada pozo solo se puede usar una vez.

1. Prepare tubos normales para los recuentos totales y tubos con recubrimiento para los calibradores, las muestras y los controles.
2. Pipetee **20 µl** de cada calibrador, suero de control y muestra en los tubos correspondientes.
3. Añada **200 µl** de trazador radiactivo en todos los tubos.
4. Incube durante 90 minutos a temperatura ambiente (18-25°C) en un agitador orbital reglado a 150 rpm.
5. Aspire el contenido de los tubos, excepto el de los de recuentos totales.
6. Añada **2 ml** de solución de lavado diluida en todos los tubos, excepto los de recuentos totales, y aspire totalmente o decante el contenido de los tubos con ayuda de papel absorbente.
7. 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 la medición en el análisis. Para evitar variaciones en la sensibilidad del sistema, el ruido de fondo debe reducirse al mínimo o ajustarse debidamente.

### Nota

Si se esperan valores elevados de anti-TPO (> 1.000 IU/ml) para una muestra de un paciente, deberá diluirse la muestra original. Esta dilución debe realizarse utilizando el calibrador cero.

**No utilice ningún otro tampón para esta operación.**

## ESQUEMA DEL ANÁLISIS

Tubos Reactivo	Actividad total	Calibradores	Controles	Muestras
Calibradores	---	20 µl	---	---
Controles	---	---	20 µl	---
Muestras	---	---	---	20 µl
Trazador	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Incubar: 90 min T° ambiente (18-25°C) con agitación (150 rpm)  
 - Aspirar o decantar - lavar: 1 x 2 ml - aspirar  
 - Recuento

## 8. CÁLCULO DE RESULTADOS

$$\text{Capacidad de unión} = \frac{B_0}{T} \times 100 = \frac{B_0 \text{ Cpm}}{T \text{ Cpm}} \times 100$$

Porcentaje de unión para calibradores, controles y muestras =

$$\text{Unión (\%)} = \frac{B}{B_0} \times 100 = \frac{\text{Calibrador o muestra, Cpm}}{B_0 \text{ Cpm}} \times 100$$

Trace la curva de calibración sobre una gráfica log/logit a partir de los valores de  $B/B_0$  (%) obtenidos para cada calibrador (eje y) con respecto a la concentración relativa (eje x). Calcule el valor  $B/B_0$  (%) de cada muestra y lea la concentración de TPO Ab en IU/ml por interpolación de 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/B <sub>0</sub> (%)	Conc. TPO Ab (IU/ml)
Actividad total (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73.2	40
CAL 2	6798	45.3	80
CAL 3	4408	29.4	150
CAL 4	1693	11.3	400
CAL 5	606	4.0	1000
CONTROL 1	5481	36.5	108
CONTROL 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

## CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado, 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.

Menos de 60 IU/ml:	Negativo en autoanticuerpos anti-TPO.
Entre 60-80 IU/ml	Intermedio
Más de 80 IU/ml:	Positivo en autoanticuerpos anti-TPO.

## 10. RENDIMIENTO DEL ANÁLISIS

### ESPECIFICIDAD

No se han observado reacciones cruzadas con autoanticuerpos antitiroglobulina presentes en suero humano.

### SENSIBILIDAD

#### Sensibilidad analítica

La sensibilidad se calculó a partir de la curva de calibración y se expresó como dosis mínima con una diferencia significativa con respecto al calibrador cero (valor promedio + 2 D. E.). Esta dosis es de 7,4 IU/ml.

#### Sensibilidad funcional

La sensibilidad funcional del análisis es el valor inferior que se mide con una precisión de varianza máxima de un 20% entre análisis. Para los autoanticuerpos anti-TPO, este valor es inferior a 20 IU/ml.

### PRECISIÓN

La precisión se evaluó sobre la variabilidad intraensayo y entre análisis, con concentraciones de analito distintas.

#### Intraensayo

Suero	Media	± (IU/ml)	D.E.	C.V. (%)	N
1	40.1	± 4.4	11.0	95	
2	105	± 5.5	5.2	19	
3	553	± 43.8	7.9	19	

#### Entre análisis

Suero	Media	± (IU/ml)	D.E.	C.V. (%)	N
1	36.7	± 4.2	11.4	8	
2	103	± 8.1	7.9	9	
3	720	± 79.1	11.0	9	

**EXACTITUD**

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

**Prueba de recuperación**

Se analizaron muestras mezcladas con volúmenes iguales de cada calibrador.

	<b>Previsto (IU/ml)</b>	<b>Medido (IU/ml)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
S1	-	23.7	-
S1 + CAL 1	31.9	28.1	88.1
S1 + CAL 2	51.9	49.1	94.6
S1 + CAL 3	86.9	81.2	93.4
S1 + CAL 4	211.9	243	114.7

	<b>Previsto (IU/ml)</b>	<b>Medido (IU/ml)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
S2	-	32.9	-
S2 + CAL 1	36.5	28.9	79.2
S2 + CAL 2	56.5	45.9	81.2
S2 + CAL 3	91.5	76.2	83.3
S2 + CAL 4	216.5	240	110.9

**Prueba de paralelismo**

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

<b>Dilución</b>	<b>Previsto (IU/ml)</b>	<b>Medido (IU/ml)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
S1 sin diluir	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
S2 sin diluir	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/8	34.1	39.8	116.7

Nota: Debido a la heterogeneidad de los anticuerpos, es posible una dilución no lineal para las muestras de determinados pacientes

# PORTUGES

## RADIOIMUNOENSAIO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ANTICORPO ANTI-TPO EM SORO HUMANO R-CO-100 - 96 Determinações

SOMENTE PARA USO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

### 1. APLICAÇÕES CLÍNICAS

A doença tiroidiana autoimune é mais freqüente nas mulheres. A prevalência do anticorpo nas mulheres aumenta com a idade, aumentando aproximadamente 10% na idade de 18-24 até 30% na idade de 55-65 para TgAb e de 15% na idade de 18-24 até 24% na idade de 55-65 para TPOAb.

### 2. PRINCÍPIO DO ENSAIO

O presente método é baseado em um radioimunoensaio (RIA). Durante a incubação, os anticorpos monoclonais anti-TPO na fase sólida competem com os auto anticorpos anti-TPO das amostras e calibradores por sítios específicos de recombinante TPO marcado com  $^{125}\text{I}$ . Após a aspiração e a lavagem, a radioatividade nos tubos é medida em um cintilador. O grau de ligação será inversamente proporcional à concentração dos autoanticorpos anti-TPO da amostra. Os calibradores de auto anticorpos anti-TPO são calibrados de acordo com a preparação de referência internacional de TMAb, MRC66/387.

### 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	Código de cor	Reconstituição
 Tubos adsorvidos anticorpos monoclonais anti-TPO produzidos em camundongo	2x48	verde	Pronto para utilizar
Ag  Marcador : recombinante TPO líquido marcado. Índice de radioatividade Preservativo: NaN3 (< 0,1%)	1 recipiente 22 ml $\pm 114 \text{ kBq}$	vermelho	Pronto para utilizar
[CAL]0 Calibradore zero Preservativo: NaN3 (< 0,1%)	1 recipiente 4.2 ml	amarelo	Pronto para utilizar
[CAL]N Calibradores – N = 5 Anti-TPO (soro humano), Preservativo: NaN3 (< 0,1%) (veja o valor exato nas etiquetas dos frascos)	5 recipientes 0.7 ml	amarelo	Pronto para utilizar
[CONTROL N] Controlo - N = 2 Anti-TPO (soro humano) Preservativo: NaN3 (< 0,1%) (veja o valor exato nas etiquetas dos frascos)	2 recipientes 0.7 ml	prateado	Pronto para utilizar
WASH  CONC Solução de lavagem (50 x concentrada) Tampão TRIS-HCl com detergente. Preservativo: NaN3 < 0,1%	1 recipiente 20 ml	castanho	para 1000ml com água destilada

- Controles e Calibradores:** Para o valor exato, consulte ao valor escrito na etiqueta do frasco.
- 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 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  $^{125}\text{I}$  (meia-vida: 60 dias), emitindo radiações X (28 keV) e  $\gamma$  (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 radioprotecção. 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).

## 4. COLETA DA AMOSTRA

Somente amostras de soro devem ser usadas. Amostras altamente lipêmicas ou hemolizadas devem ser rejeitadas. Mantenha as amostras entre 2-8°C por 1 dia; para períodos mais longos é aconselhável congelar as alíquotas a -20°C. Evitar congelar e descongelar as amostras.

## 5. 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.
  - Cada poço pode ser usado apenas uma vez.
1. Prepare os tubos lisos para contagens totais, e os tubos adsorvidos para calibradores, amostras e controles.
  2. Pipete **20 µl** de cada calibrador, soros controle e de amostras nos tubos correspondentes.
  3. Adicione **200 µl** do marcador radioativo em todos os tubos.
  4. Incube por **90 minutos a temperatura ambiente (18-25°C)** em um agitador orbital ajustado em 150 rpm.
  5. Aspire os conteúdos de cada tubo, exceto os tubos para contagens totais.
  6. Adicione **2 ml** da solução de lavagem diluída em cada tubo, exceto nos tubos para contagens totais e aspire completamente ou decante o conteúdo de todos os tubos no papel absorvente.
  7. 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.

**Nota:** Se valores elevados de anti-TPO (> 1000 IU/ml) são esperados para amostras de paciente, a amostra original deve ser diluída. Esta diluição deve ser feita usando o calibrador zero. **Não use nenhum outro tampão para esta finalidade.**

## ESQUEMA DO ENSAIO

Tubos	Atividade Total	Calibradores	Controle	Amostras
<b>Reagentes</b>				
Calibradores	----	20 µl	----	----
Controle	----	----	20 µl	----
Amostras	----	----	----	20 µl
Marcador	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Incubar 90 min T.A. (18-25°C) sob agitação (150 rpm)				
- Aspirar - lavar: 1 x 2 ml - aspirar				
- Contar				

## 6. CÁLCULO DOS RESULTADOS

$$\text{Capacidade de Ligação} = \frac{B_0}{T} (\%) = \frac{B_0 \text{ cpm}}{T \text{ cpm}} \times 100$$

Porcentagem de ligação para Calibradores, Controles e Amostras =

$$\text{Ligação (\%)} = \frac{B}{B_0} (\%) = \frac{\text{Cpm do calibrador e amostra}}{B_0 \text{ Cpm}} \times 100$$

Desenhe a curva de calibração no gráfico tipo log/lin traçando o  $B/B_0$  (%) obtido para cada calibrador (eixo y) contra a concentração relativa (eixo x). Calcule o  $B/B_0$  (%) de cada amostra e leia a concentração de TPO Ab em IU/ml, 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/B <sub>0</sub> (%)	TPO Ab conc. (IU/ml)
Atividade Total (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73.2	40
CAL 2	6798	45.3	80
CAL 3	4408	29.4	150
CAL 4	1693	11.3	400
CAL 5	606	4.0	1000
CONTROL 1	5481	36.5	108
CONTROL 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

## CONTROLO INTERNO DE QUALIDADE

- Se os resultados obtidos para o Controlo 1 e/ou 2 não se situarem dentro do intervalo especificado, 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.

## 7. VALORES DE REFERÊNCIA

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

Menor que 60 IU/ml:	Negativo para auto-anticorpos anti-TPO.
Entre 60-80 IU/ml	Límite
Maior que 80 IU/ml:	Positivo para auto-anticorpos anti-TPO.

## 8. DESEMPENHO DO ENSAIO

### ESPECIFICIDADE

Não foram observadas reações cruzadas com autoanticorpos anti-tirotoglobulina presentes no soro humano.

### SENSIBILIDADE

#### Sensibilidade analítica

A sensibilidade foi calculada baseada na curva de calibração e expressada como a dose mínima que mostra uma diferença significativa do calibrador zero (valor médio - 2 S.D.). Esta dose é de 7,4 IU/ml.

#### Sensibilidade Funcional

O ensaio de sensibilidade funcional é o valor mais baixo que é medido com uma precisão da variação dentro do ensaio de no máximo 20%. Para o anti-TPO autoanticorpos, este valor é menor que 20 IU/ml.

### PRECISÃO

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

### No ensaio

Soro	Média ± (IU/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	40.1	± 4.4	11.0	95
2	105	± 5.5	5.2	19
3	553	± 43.8	7.9	19

### Entre Ensaios

Soro	Média ± (IU/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	36.7	± 4.2	11.4	8
2	103	± 8.1	7.9	9
3	720	± 79.1	11.0	9

## ACURÁCIA

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

### Teste de Recuperação

As amostras do teste de recuperação, misturadas com volumes iguais de cada calibrador foram testadas

	Esperado (IU/ml)	Mensurado (IU/ml)	Recuperação (%)
A1	-	23.7	-
A1 + CAL 1	31.9	28.1	88.1
A1 + CAL 2	51.9	49.1	94.6
A1 + CAL 3	86.9	81.2	93.4
A1 + CAL 4	211.9	243	114.7
A2	-	32.9	-
A2 + CAL 1	36.5	28.9	79.2
A2 + CAL 2	56.5	45.9	81.2
A2 + CAL 3	91.5	76.2	83.3
A2 + CAL 4	216.5	240	110.9

### Teste Paralelismo

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

Diluição	Esperado (IU/ml)	Mensurado (IU/ml)	Recuperação (%)
A1 sem diluir	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
A2 sem diluir	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/16	34.1	39.8	116.7

Obs: Por causa da heterogenicidade dos autoanticorpos , para algumas amostras uma diluição linear é possível.

# ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΡΑΔΙΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ  
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ  
ΑΝΤΙΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΣΕ  
ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ  
R-CO-100 - 96 προσδιορισμοί

## ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO

### 1. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Αυτοανοσία του θυρεοειδούς καταγράφεται πιο συχνά σε γυναίκες. Η διάδοση αντισωμάτων στις γυναίκες αυξάνεται με την ηλικία, φθάνοντας από ποσοστό περίπου 10% στην ηλικία των 10 ετών σε ποσοστό έως 30% στην ηλικία των 55-65 ετών για τη TgAb και από ποσοστό 15% στην ηλικία των 18-24 ετών έως 24% στην ηλικία των 55-65 ετών για τη TPOAb.

### 2. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο παρών προσδιορισμός βασίζεται σε μία ανταγωνιστική ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA). Κατά τη διάρκεια της επώασης, τα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-TPO της στερεάς φάσης ανταγωνίζονται με τα αυτοαντισώματα αντι-TPO του δείγματος/βαθμονομητή για τις ειδικές θέσεις της σημασμένης με Iώδιο<sup>125</sup> ανασυνδυασμένου TPO (ιχνηθέτης). Μετά την αναρρόφηση και την πλύση, η ραδιενέργεια στα σωληνάρια μετράται σε μετρητή γ ακτινοβολίας. Ο βαθμός δέσμευσης θα είναι αντιστρόφως ανάλογος της συγκέντρωσης αυτοαντισωμάτων αντι-TPO του δείγματος. Οι βαθμονομητές των αυτοαντισωμάτων αντι-TPO βαθμονομούνται ι σύμφωνα με το διεθνές σκεύασμα αναφοράς TMAb MRC66/387.

### 3. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

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

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 εξετάσεων	Χρωματικός κωδικός	Ανασύσταση
	2x48	πράσινο	Έτοιμο για χρήση
Epitropona σωληνάρια με μονοκλωνικά αντισώματα ποντικών αντι-TPO			
Ag <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">125I</span>	1 φιαλίδιο 22 ml ± 114 kBq	το κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
Iχνηθέτης : υγρού ιχνηθέτη ανασυνδυασμένου TPO. Συντηρητικό: NaN3 (< 0,1%).			
[CAL]0]	1 φιαλίδιο 4.2 ml	κίτρινος	Έτοιμο για χρήση
Bαθμονομητές μηδέν Συντηρητικό: NaN3 (< 0,1%)			
[CAL]N]	5 φιαλίδια 0.7 ml	κίτρινος	Έτοιμο για χρήση
Bαθμονομητές – N = 5 αντι-TPO (ανθρώπινο ορό). Συντηρητικό: NaN3 (< 0,1%) (δείτε την ακριβή τιμή στις ετικέτες του φιαλιδίου)			
[CONTROL N]	2 φιαλίδια λυσιφιλοποιημένο	κίτρινος	Έτοιμο για χρήση
Oροί ελέγχου - N = 2 αντι-TPO (ανθρώπινο ορό). Συντηρητικό: NaN3 (< 0,1%) (δείτε την ακριβή τιμή στις ετικέτες του φιαλιδίου)	1 φιαλίδιο		Συμπληρώστε

Διάλυμα πλύσης (συμπυκνωμένο 50 x) ρυθμιστικού διαλύματος TRIS-HCl με απορρυπαντικό και συντηρητικό: NaN3 < 0,1%	20ml	καφέ	με απεσταγμένο νερό μέχρι τα 1000ml.
---	------	------	--------------------------------------

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

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 ΆΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

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

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

Προκειμένου να πάρετε αναπαραγώγιμα 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 κιτ αυτό περιέχει το 125 I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενέργη ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία X (28 keV) και γ (35.5 keV).

Αυτό το ραδιενέργο πριόνιο είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενέργων προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το πριόνιο σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενέργου 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 ραδιενέργων υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενέργεις ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσοτόπων.

Τυχόν διαρροές ραδιενέργων υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενέργα απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο κιτ αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από το 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 ασφάλειας. Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγή 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 κιτ αυτού 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 συστρώματος αζίδιου.

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

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

## 6. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο δείγμα ορού. Υψηλά λιπαρικά ή αιμολυμένα δείγματα πρέπει να απορρίπτονται. Διατηρήστε τα δείγματα στους 2-8 °C για 1 ημέρα.

Για μεγαλύτερες περιόδους, συνιστούμε να καταψύχετε τα δείγματα σε κλάσματα, σε θερμοκρασία -20 °C. Η επανειλημένη κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων θα πρέπει να αποφεύγεται.

## 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.
  - Κάθε πηγάδι μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο μία φορά.
1. Προετοιμάστε απλά σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ("total") και επιστρωμένα σωληνάρια για τους βαθμονομητές, τα δείγματα και τους ορούς ελέγχου.
  2. Διανείμετε με πιπέτα **20 μl** από κάθε βαθμονομητή, ορούς ελέγχου και δείγματα στα αντίστοιχα σωληνάρια.
  3. Προσθέτετε **200 μl** ραδιενέργογύ ιχνηθέτη σε όλα τα σωληνάρια.
  4. Επωάστε επί 90 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) με αναδευτήρα τροχιακής κίνησης στις 150 rpm.
  5. Αναρροφήστε το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου, με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ("total").
  6. Προσθέτετε **2 ml** αραιωμένου διαλύματος πλύσης σε κάθε σωληνάριο, με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ("total") και αναρροφήστε τελείως ή μεταγγίστε το περιεχόμενο σε απορροφητικό χαρτί.
  7. 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.

### Σημείωση

Αν αναμένονται υψηλές τιμές αντι-TPO (> 1000 IU/ml) για οποιοδήποτε δείγμα ασθενούς, το αρχικό δείγμα θα πρέπει να αραιώνεται. Η αραίωση αυτή θα πρέπει να γίνεται με χρήση του μηδενικού βαθμονομητή.

**Μη χρησιμοποιείτε άλλα ρυθμιστικά διαλύματα για τον σκοπό αυτό.**

## ΣΧΗΜΑ ΜΕΘΟΔΟΥ

Σωληνάρια	Μέτρηση ιχνηθέτη $^{125}\text{I}$ (total)	Βαθμονομητές	Οροί ελέγχου	Δείγματα
<b>Αντιδραστήριο</b>	----	20 μl	----	----
<b>Βαθμονομητές Οροί ελέγχου</b>	----	20 μl	----	----
<b>Δείγματα Ιχνηθέτης</b>	200 μl	200 μl	200 μl	200 μl

- Επωάστε 90 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C), ανάδευση (150 rpm)  
- Αναρροφήστε - πλύνετε: 1 x 2 ml - Αναρροφήστε  
- Μετρήστε

## 8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

$$\frac{\text{Ικανότητα δέσμευσης}}{\text{T}} = \frac{\text{B}_0}{\text{B}_0 \text{ Cpm}} = \frac{\text{B}_0}{\text{T Cpm}} \times 100$$

Ποσοστό δέσμευσης για βαθμονομητές, ορούς ελέγχου και δείγματα =

$$\frac{\text{B}}{\text{Cpm}} = \frac{\text{Cpm} \text{ βαθμονομητή} \text{ } \%}{\text{Cpm} \text{ B}_0} \times 100$$

Σχεδιάστε την καμπύλη βαθμονόμησης σε χαρτί λογαριθμικών/γραμμικών γραφημάτων αποτυπώνοντας το  $\text{B}/\text{B}_0$  (%) που υπολογίζεται για κάθε βαθμονομητή (άξονας των γ) έναντι της σχετικής συγκέντρωσης (άξονας των x). Υπολογίστε το  $\text{B}/\text{B}_0\%$  κάθε δείγματος και διαβάστε τη συγκέντρωση TPO Ab σε IU/ml, 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/B <sub>0</sub> (%)	Συγκ. TPO Ab (IU/ml)
Μέτρηση ιχνηθέτη $^{125}\text{I}$ (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73.2	40
CAL 2	6798	45.3	80
CAL 3	4408	29.4	150
CAL 4	1693	11.3	400
CAL 5	606	4.0	1000
ΟΡΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ 1	5481	36.5	108
ΟΡΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

## 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 ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), 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.

Μικρότερο από 60 IU/ml:	Αρνητικό για αυτοαντισώματα αντι-TPO.
Μεταξύ 60 –80 IU/ml	Οριακό
Μεγαλύτερο από 80 IU/ml:	Θετικό για αυτοαντισώματα αντι-TPO.

## 10. ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

### ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Δεν έχουν παρατηρηθεί διασταυρούμενες αντιδράσεις με αυτοαντισώματα αντι-θυρεοσφαιρίνης παρόντα σε ανθρώπινο ορό.

### ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

#### Αναλυτική ευαισθησία

Η ευαισθησία υπολογίστηκε με βάση την καμπύλη βαθμονόμησης και εκφράστηκε ως η ελάχιστη δόση που δείχνει σημαντική διαφορά από το μηδενικό βαθμονομητή (μέση τιμή - 2 T.A.) Η δόση αυτή είναι 7.4 IU/ml.

#### Λειτουργική ευαισθησία

Η λειτουργική ευαισθησία του προσδιορισμού είναι η χαμηλότερη τιμή που μετράται με ακρίβεια μέγιστης διακύμανσης 20% μεταξύ

διαφορετικών προσδιορισμών. Για τα αυτοαντισώματα αντι-TPO, η τιμή αυτή είναι μικρότερη από 20 IU/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 (IU/ml)	± Τυπ. απόκλιση	Σ.Δ. (%)	N
1	40.1	± 4.4	11.0	95
2	105	± 5.5	5.2	19
3	553	± 43.8	7.9	19

#### **Μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών**

Ορός	Μέση τιμή (IU/ml)	± Τυπ. απόκλιση	Σ.Δ. (%)	N
1	36.7	± 4.2	11.4	8
2	103	± 8.1	7.9	9
3	720	± 79.1	11.0	9

#### **ΟΡΘΟΤΗΤΑ**

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

#### **Δοκιμασία ανάκτησης**

Υποβλήθηκαν σε δοκιμασία δείγματα αναμεμειγμένα με ίσους όγκους από κάθε βαθμονομητή.

	Αναμενόμενη συγκέντρωση (IU/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (IU/ml)	Ανάκτηση (%)
S1	-	23.7	-
S1 + CAL 1	31.9	28.1	88.1
S1 + CAL 2	51.9	49.1	94.6
S1 + CAL 3	86.9	81.2	93.4
S1 + CAL 4	211.9	243	114.7
S2	-	32.9	-
S2 + CAL 1	36.5	28.9	79.2
S2 + CAL 2	56.5	45.9	81.2
S2 + CAL 3	91.5	76.2	83.3
S2 + CAL 4	216.5	240	110.9

#### **Δοκιμασία παραλληλισμού**

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

Αραίωση	Αναμενόμενη συγκέντρωση (IU/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (IU/ml)	Ανάκτηση (%)
S1 μη αραιωμένο	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
S2 μη αραιωμένο	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/8	34.1	39.8	116.7

Σημείωση. Λόγω της ετερογένειας των αυτοαντισωμάτων, μερικά δείγματα ασθενών είναι δυνατόν να παρουσιάσουν μια μη γραμμική αραίωση

# POLSKI

## TEST RADIOIMMUNOMETRYCZNY DO ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA AUTOPRZECIWCIAŁ PRZECIW TYREOPEROKSYDAZIE W LUDZKIEJ SUROWICY KRWI R-CO-100 - 96 oznaczeń

WYŁĄCZNIE DO STOSOWANIA W DIAGNOSTYCE IN VITRO

### 1. ZASTOSOWANIE KLINICZNE

Aktywność autoimmunologiczną tarczycy stwierdza się częściej u kobiet. Obecność przeciwciał u kobiet wzrasta z wiekiem z około 10% w wieku 18-24 lat do 30% w wieku 55-65 lat dla przeciwciał przeciw Tg i od 15% w wieku 18-24 lat do 24% w wieku 55-65 lat dla przeciwciał przeciw TPO.

### 2. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Niniejsza metoda opiera się na kompetencyjnym teście radioimmunologicznym (RIA). Podczas inkubacji przeciwciała monoklonalne przeciw TPO w fazie stałej konkuruje z kalibratorem-autoprzeciwciałami przeciw TPO o swoiste miejsca na rekombinowanych TPO znakowanej  $^{125}\text{I}$  (znacznik). Po pobraniu i odmyciu promieniotwórczość w probówkach jest mierzona w liczniku gamma. Stopień wiążania będzie odwrotnie proporcjonalny do stężenia autoprzeciwciał przeciw TPO w badanej próbce. Kalibratorzy autoprzeciwciał przeciw TPO są wykalibrowane wobec międzynarodowego poziomu odniesienia TMAb - MRC66/387.

### 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	Kolor	Rekonstytucja
	2x48	zielony	<b>Gotowe do zastosowania.</b>
Ag $^{125}\text{I}$	1 fiołka 22 ml $\pm 114 \text{ kBq}$	czerwony	<b>Gotowe do zastosowania.</b>
[CAL]0] Kalibratory zero Środek konserwujący: NaN3 (<0,1%)	1 fiołka 4.2 ml	żółty	<b>Gotowe do zastosowania.</b>
[CAL]N] Kalibratory – N = 5 przeciwciało przeciw TPO (ludzka surowica). Środek konserwujący: NaN3 (<0,1%) (patrz dokładne wartości na etykietach fiolek)	5 fiołek 0.7 ml	żółty	<b>Gotowe do zastosowania.</b>
[CONTROL N] Kontrole - N = 2 przeciwciało przeciw TPO (ludzka surowica) Środek konserwujący: NaN3 (<0,1%) (patrz dokładne wartości na etykietach fiolek)	2 fiołek 0.7 ml	srebrny	<b>Gotowe do zastosowania.</b>

WASH	SOLN	CONC	1 fiołka 20 ml	brązowy	1000 ml wodą destylowaną
Roztwór odmywający (50-krotnie stężony) Bufora Tris-HCl z detergentem i konserwantem NaN3 (<0,1%)					

- Kontrole i Kalibratory:** Dokładną wartość należy uzyskać z etykiety fiolki. Środek konserwujący: NaN3 (<0,1%).
- Probówki z warstwą przeciwciał:** Niewykorzystane probówki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, chronić przed wilgocią.
- Roztwór odmywający (50-krotnie stężony):** Uzupełnić do 1000 ml wodą destylowaną. Tak rozcierany roztwór odmywający jest stabilny przez 2 miesiące przy przechowywaniu w temperaturze 2-8°C.

### 4. MATERIAŁY KONIECZNE A NIEDOSTARCZONE W ZESTAWIE.

- Plastikowe probówki
- Stojaki do probówek.
- Automatyczne mikropipety z jednorazowymi końcówkami.
- Wytrząsarka typu Vortex.
- Menzurka.
- Myjka lub urządzenie do mycia probówek.
- Licznik scyntylacyjny gamma.
- Woda destylowana.
- Mieszadło z regulacją o 150 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  $^{125}\text{I}$  (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emityjący 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, przeciwciało anty-HCV, anty-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności, że materiały pochodzenia ludzkiego nie przenoszą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbками 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 (zawierającymi azydyle sodowe jako środek konserwujący). Azydyle znajdują się w zestawie może reagować z miedzią i ołówkiem 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

Zaleca się stosowanie surowicy krwi. Próbki z lipemią albo hemolizą 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.

## 7. PROCEDURY TESTU

- Doprzedzić 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.
- Każdą studzienkę można wykorzystać tylko raz.

1. Przygotować zwykłe probówki do zliczeń całkowitych oraz probówki z warstwą przeciwniczą do kalibratorów, próbek badanych i kontroli.
2. Pobrać pipetą **20 µl** każdego kalibratora, kontroli lub próbki badanej do odpowiednich probówek.
3. Dodać po **200 µl** znacznika radioaktywnego do wszystkich probówek.
4. Inkubować przez **90 minut** w temperaturze pokojowej (18-25°C), wytrząsając na mieszadle orbitalnym przy 150 obrotach na minutę.
5. Pobrać zawartość każdej probówki, za wyjątkiem probówek do zliczeń całkowitych.
6. Dodać po **2 ml** rozcierzonego roztworu do odmywania do każdej probówki, za wyjątkiem probówek do zliczeń całkowitych i dokładnie usunąć albo zlać zawartość wszystkich probówek na papier chłonny.
7. 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, to należy zredukować do minimum albo brać pod uwagę w obliczeniach.

### Uwaga

Jeśli w badanej próbce oczekiwane są wysokie wartości przeciwnicza przeciw TPO (powyżej 1000 IU/ml), próbce należy rozcierzyć. Do rozcierzenia używać kalibratora zero.

Nie używać żadnego innego bufora do tego celu.

## SCHEMAT TESTU

Probówki	Aktywność całkowita	Kalibratory	Kontrola	Próbki
Kalibratory Kontrola	----	20 µl	----	----
Próbki Znacznik	----	----	----	20 µl 200 µl

- Inkubować przez 90 minut w temp. Pokojowej (18-25°C), wytrząsając (150 obrotów na minutę)  
 - Pobrać - przemyć: 1 x 2 ml - Pobrać  
 - Wykonać zliczenie

## 8. OBLCZENIE WYNIKÓW

$$\text{Zdolność wiążania} = \frac{B_0}{T} (\%) = \frac{B_0 \text{ Cpm}}{T \text{ Cpm}} \times 100$$

Procent wiążania dla kalibratorów, prób kontrolnych i próbek badanych =

$$\text{Wiążanie (\%)} = \frac{B}{B_0} (\%) = \frac{\text{Cpm kalibratora lub próbki}}{\text{B}_0 \text{ Cpm}} \times 100$$

Wykreślić krzywą kalibracyjną na wykresie log/logit poprzez wykreślenie procenta  $B/B_0$  uzyskanego dla każdego kalibratora (oś y) wobec względnego stężenia (oś x). Wyliczyć procent  $B/B_0$  każdej próbki i odczytać stężenie przeciwnicza przeciw TPO w IU/ml przez interpolację na krzywej kalibracyjnej.

### PRZYKŁAD OBLCZENIA

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

Opis	Średnia ilość zliczeń	B/B <sub>0</sub> (%)	Stęże. TPO Ab (IU/ml)
Aktywność całkowita (T)	46591	-	-
CAL 0	15003	100	0
CAL 1	10978	73.2	40
CAL 2	6798	45.3	80
CAL 3	4408	29.4	150
CAL 4	1693	11.3	400
CAL 5	606	4.0	1000
Kontrola 1	5481	36.5	108
Kontrola 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

### WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym, 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 rozmażać więcej niż jeden raz.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnic między 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.

Poniżej 60 IU/ml:	Ujemny dla autoprzeciwnicza przeciw TPO
Pomiędzy 60-80 IU/ml:	Linia graniczna
Powyżej 80 IU/ml:	Dodatni dla autoprzeciwnicza przeciw TPO.

## 10. CHARAKTERYSTYKA TESTU

### SWOISTOŚĆ

Nie zaobserwowano reakcji krzyżowych z autoprzeciwnicząmi przeciw tyreoglobulinie obecnymi w ludzkiej surowicy krwi.

### CZUŁOŚĆ

#### Czułość analityczna

Czułość obliczono na podstawie krzywej kalibracyjnej i wyrażono w postaci minimalnej dawki dającej istotną różnicę od kalibratora zero (wartość średnia - 2 S.D.). Dawka ta wynosi 7,4 IU/ml.

#### Czułość funkcjonalna

Czułość funkcjonalna testu to najniższy poziom który jest mierzony z 20% precyzją zmienności wewnętrztestowej. Dla autoprzeciwnicza przeciw TPO wartość ta jest niższa od 20 IU/ml.

## PRECYZJA

Precyzaja została wyznaczona ze zmienności wewnętrznej i zmienności międzytestowej przy różnych stężeniach analizowanej substancji.

### Wewnętrztestowa

Surowica	Średnia (IU/ml)	±	S.D.	C.V. (%)	N
1	40.1	±	4.4	11.0	95
2	105	±	5.5	5.2	19
3	553	±	43.8	7.9	19

### Międzytestowa

Surowica	Średnia (IU/ml)	±	S.D.	C.V. (%)	N
1	36.7	±	4.2	11.4	8
2	103	±	8.1	7.9	9
3	720	±	79.1	11.0	9

## DOKŁADNOŚĆ

Dokładność metody została sprawdzona przy pomocy testu odzyskania i równoległości.

### Test Odzyskania:

Testowano próbki zmieszane z równymi objętościami każdego punktu kalibracyjnego.

	OCZEKIWANA (IU/ml)	MIERZONA (IU/ml)	ODZYSKANIA (%)
S1	-	23.7	-
S1 + CAL 1	31.9	28.1	88.1
S1 + CAL 2	51.9	49.1	94.6
S1 + CAL 3	86.9	81.2	93.4
S1 + CAL 4	211.9	243	114.7
S2	-	32.9	-
S2 + CAL 1	36.5	28.9	79.2
S2 + CAL 2	56.5	45.9	81.2
S2 + CAL 3	91.5	76.2	83.3
S2 + CAL 4	216.5	240	110.9

### Test równoległości:

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

ROZCIEŃCZENIE	OCZEKIWANA (IU/ml )	MIERZONA (IU/ml )	ODZYSKANIA (%)
S1 nierozcieńczona	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
S2 nierozcieńczona	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/16	34.1	39.8	116.7

Uwaga. Z powodu niehomogenności autoprzeciwiął w niektórych próbkach od pacjentów możliwe jest rozcieńczenie nielinowe.

# БЪЛГАРСКИ

## РАДИОИМУННО ИЗСЛЕДВАНЕ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗМЕРВАНЕ НА АВТОАНТИТЕЛА НА анти-TPO В ЧОВЕШКИ СЕРУМ R-CO-100 - 96 Измервания

### САМО ЗА IN VITRO ДИАГНОСТИКА

#### 1. КЛИНИЧНИ ПРИЛОЖЕНИЯ

Тиреоиден автоимунитет по-често се установява при жените. Широкото разпространение на антителата при жените се увеличава с възрастта, като се покачва от около 10% на 18-24 годишна възраст и достига до 30% на 55-65 годишна възраст за TgAb и от 15% на 18-24 годишна възраст до 24% на 55-65 годишна възраст за TPOAb.

#### 2. ПРИНЦИП НА ИЗСЛЕДВАНЕ

Използваният понастоящем метод се базира на конкурентното радиоимунно изследване (RIA). По време на инкубацията моноклоналното анти-TPO антитялото в твърда фаза се конкурира с анти-TPO автоантителата в пробата/ калибратора за специфични центрове на натоварен с  $^{125}\text{I}$  рекомбинантен ТРО (трейсър). След аспирация и измиване радиоактивността в епруветките се измерва с гама брояч. Степента на свързване е обратно пропорционална на концентрацията на анти-Tg автоантителата в пробата.

Калибраторите на RIAZENco TPO Ab са калибрирани, съгласно международните препоръки за пригответяне на TPOAb MRC66/387.

#### 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	Код на цветят	Разтварянето
епруветки, покрити с миши моноклонални анти-TPO антитела	2x48	зелен	Готов за употреба
Ag $^{125}\text{I}$ трейсър : натоварен с йод рекомбинантен ТРО, оцветен в червено Консервант: NaN3 (<0.1%)	1 флакона 22 ml $\pm 114 \text{ kBq}$	червен	Готов за употреба
[CAL]0 Калибратор нула Консервант: NaN3 (<0.1%)	1 флакона 4.2 ml	жълт	Готов за употреба
[CAL]N Калибратор – N = 5 анти-TPO (човешки serum) Консервант: NaN3 (<0.1%). (вижте точните стойности на етикетите на флакона)	5 флакона 0.7 ml	жълт	Готов за употреба
[CONTROL N] Control - N = 2 Анти-TPO (човешки serum) Консервант: NaN3 (<0.1%). (вижте точните стойности на етикетите на флакона)	2 флакона 0.7 ml	сребърен	Готов за употреба
WASH SOLN CONC Измиращ разтвор (50 x концентриран) трис-буфер с HCl, дегергент и консервант NaN3 (<0.1%)	1 флакона 20ml	кафяв	1000 ml с дестилирана вода

- **Контроли и Калибратор:** За точната стойност вижте етикета на флакона.
- **Покрити епруветки:** Неизползваните епруветки трябва да се съхраняват при 2-8°C, защитени от влага.
- **Измиращ разтвор (50 x концентриран):** Разредете го до 1000 ml с дестилирана вода. Разреденият измиращ 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 измиращо устройство;
- Сцинтиляционен гама брояч;
- Дестилирана вода.
- Орбитално клатещо устройство, настроено на 150 об. в минута;

#### 5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ ЗА ПОТРЕБИТЕЛЯ

Този материал трябва да се използва изключително за инвирто 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 истекъл срок на годност.
- Да се използват идеално чисти стъклени съдове.
- Да се използва дестилирана вода, съхранявана в чисти съдове.
- Да се избягва всяко заразяване на пробите. За тази цел да се използват инструменти за еднократна употреба за всяка проба и реактив.

##### Безопасност:

За използване изключително за инвирто 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 пробы 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, погълщане 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 на 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 преквърляйте с пипета с уста. Използвайте предпазно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

За повече информация вижте информационния фиш (MSDS).

## 6. ВЗИМАНЕ НА ПРОБИТЕ

Препоръчително е използването на серум. Липемичните или хемолизираните пребори трябва да се изхвърлят. Съхранявайте пробите при 2-8°C за 1 ден; за по-дълги периоди е препоръчително преборите да бъдат замразени в аликовти при -20°C. Избягвайте повтарящите се цикли по замразяване - размразяване на преборите.

## 7. ПРОЦЕДУРА ПО ИЗСЛЕДВАНЕТО

- Преди употреба приведете всички пребори и калибратори до стайна температура (18-25°C).
- Преди употреба смесете преборите чрез обръщане.
- При всички калибратори е препоръчително двойно измерване.
- Всяка ямка може да се използва само веднъж.

- Пригответе обикновени епруветки за общото пребояване и покрити епруветки за калибраторите, преборите и контролите.
- Накапете с пипета **20 µl** от всички калибратор, контролните серуми и преборите в съответните епруветки.
- Добавете **200 µl** радиоактивен трейсър във всички епруветки.
- Разбъркайте епруветките в завихрящо устройство и ги инкубирайте за **90 минути** на стайна температура (18-25°C) върху орбитално клатещо устройство, настроено на 150 об. в минута.
- Аспирирайте съдържанието на всяка епруветка, с изключение на тези, предназначени за общото пребояване.
- Добавете **2 ml** разреден измиващ разтвор към всички епруветки, освен тези за общото пребояване, и аспирирайте или прелейте съдържанието им върху абсорбираща хартия.
- Измерете радиоактивността, свързана към епруветките (време на броене: 1 минута) посредством гама брояч. Преди да извършите измерванията е препоръчително да регулирате фонъ на уреда. За да избегнете вариациите в чувствителността на системата, фонът трябва да бъде намален до минимум или правилно оптимизиран.

### ЗАБЕЛЕЖКА:

Ако се очакват високи стойности на анти-TPO (> 1000 IU/ml) при даден пациент, разредете оригиналната пребора. Разреждането извършете с нулев калибратор. За целта не използвайте буфери.

### СХЕМА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Епруветки Реагент	Обща радиоак- тивност	Калибратори	Контроли	Пребори
Калибратори	----	20 µl	----	----
Контролни серуми	----	----	20 µl	----
Пребори	----	----	----	20 µl
Трейсър	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Разбъркайте и инкубирайте: 90 минути. на стайна температура (18-25°C) в клатещо устройство (150 оборота в минута).  
- Аспирирайте - измийте еднократно с 2 ml - Аспирирайте - Извършете броенето.

## 8. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

$$\text{Свързана радиоактивност} = \frac{\text{Bo}}{\text{T}} \times 100 = \frac{\text{Bo Cpm}}{\text{T Cpm}} \times 100$$

Процент на свързване при калибраторите, контролите и преборите =

$$\text{Свързване \%} = \frac{\text{Bo}}{\text{Bo}} \times \frac{\text{Пребр. в мин. на калибратор или пребора}}{\text{Преброявания в минута на Bo}} \times 100$$

Начертайте калибрационната крива върху семи-логаритмична или logit-log графична хартия, като нанесете  $B/B_0\%$ , получено за всеки калибратор (по оста y), и относителната концентрация (по оста x). Изчислете  $B/B_0\%$  на всяка пребора и отчетете концентрацията на анти-TPO в IU/ml, чрез интерполяция от калибрационната крива.

### ПРИМЕРНО ИЗЧИСЛЯВАНЕ

Дадените в долната таблица стойности трябва да се считат като примерни и не трябва да се използват вместо данните от изследването.

Описание	Средно пребояване в минута	$B/B_0\%$ (%)	Концентрация на TPO Ab (IU/ml)
Обща радиоактивност (T)	46591	-	-
Калибратор 0	15003	100	0
Калибратор 1	10978	73.2	40
Калибратор 2	6798	45.3	80
Калибратор 3	4408	29.4	150
Калибратор 4	1693	11.3	400
Калибратор 5	606	4.0	1000
КОНТРОЛА 1	5481	36.5	108
КОНТРОЛА 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

### ВЪТРЕШЕН КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2, не са в интервала на специфицираните референтни стойности, те не могат да бъдат използвани, докато не бъде дадено задоволително обяснение за получените несъответствия.
- По желание, всяка лаборатория може да направи собствен набор от контролни пребори, които да съхранява замразени в аликовти.
- Критериите за приемане на разликата между резултатите от изследването на две еднакви пребори трябва да са базирани на Добрата лабораторна практика.

## 9. РЕФЕРЕНТНИ СТОЙНОСТИ

Препоръчително е всяка лаборатория да определи свой собствен интервал на референтните стойности. Дадените в долната таблица стойности са само с указателен характер.

Под 60 IU/ml	Отрицателен за наличието на автоантитела на анти-TPO
Между 60 - 80 IU/ml	Граница линия.
Над 80 IU/ml	Положителен за наличието на автоантитела на анти-TPO

## 10. ПРОВЕЖДАНЕ НЕ ИЗСЛЕДВАНЕТО

### СПЕЦИФИЧНОСТ

Не бяха наблюдавани кръстосани реакции с анти-тиреоглобулин автоантитела, налични в човешкия серум.

### ЧУВСТВИТЕЛНОСТ

#### Аналитична чувствителност

Чувствителността бе изчислена на базата на калибрационната крива и изразена като минималната доза, показваща значителна разлика от нулевия калибратор (средна стойност - 2 пъти стандартното отклонение). Тази доза е 7,4 IU/ml.

#### Функционална чувствителност

Функционалната чувствителност на изследването представлява най-ниската стойност, която се измерва с прецизност от максимум 20% вариация в рамките на изследването. За автоантителата на анти-TPO тази стойност е под 20 IU/ml.

### ПРЕЦИЗНОСТ

Прецизността е определена на базата на променливостта в рамките на теста и между тестовете при различни концентрации на изследваното вещество.

**В рамките на теста**

Серум	Средно ± Стандартно отклонение (IU/ml)	Коефициент на вариация %	Брой
1	40.1 ± 4.4	11.0	95
2	105 ± 5.5	5.2	19
3	553 ± 43.8	7.9	19

**Между тестовете**

Серум	Средно ± Стандартно отклонение (IU/ml)	Коефициент на вариация %	Брой
1	36.7 ± 4.2	11.4	8
2	103 ± 8.1	7.9	9
3	720 ± 79.1	11.0	9

**ТОЧНОСТ**

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

**Възстановителен тест**

Бяха изследвани проби, смесени с еднакви обеми от всеки калибратор.

Добавено	Очаквано (IU/ml)	Измерено (IU/ml)	Възстановяване (%)
S1	-	23.7	-
S1 + КАЛ. 0	31.9	28.1	88.1
S1 + КАЛ. 1	51.9	49.1	94.6
S1 + КАЛ. 2	86.9	81.2	93.4
S1 + КАЛ. 3	211.9	243	114.7
S2	-	32.9	-
S2 + КАЛ. 0	36.5	28.9	79.2
S2 + КАЛ. 1	56.5	45.9	81.2
S2 + КАЛ. 2	91.5	76.2	83.3
S2 + КАЛ. 3	216.5	240	110.9

**Тест на паралелизъм**

Серуми с високи концентрации на изследваното вещество бяха тествани при различно разреждане с нулев калибратор.

Разреждане	Очаквано (IU/ml)	Измерено (IU/ml)	Възстановяване (%)
S1 неразреден	-	857	-
1/2	428	418	97.7
1/4	214	248	115.9
1/8	107	126	117.8
1/16	53.5	64	119.6
S2 неразреден	-	273	-
1/2	136	136	100.0
1/4	68.1	60.0	88.1
1/16	34.1	39.8	116.7

Важно: Поради хетерогенността на автоантителата, е възможно пробите на някои пациенти да бъдат и нелинейно разредени.

# DIAsource TPO Ab-RIA [체외진단의료기기]

## I. 제품개요

순번	항 목	내 용
1	품목명	자가면역질환검사시약
2	제품명	Diasource TPO Ab-RIA
3	허가번호	체외 수인 15-208 호
4	사용목적	사람의 혈청 내 항 Thyroperoxidase autoantibody 정량측정
5	포장단위	96 테스트/키트
6	저장방법	2~8°C, 제조일로부터 72일
7	사용기한	2~8°C, 제조일로부터 72일

## II. 측정원리

현 측정법은 경쟁적 면역측정법(RIA)에 기초를 둔다. 반응이 되는 동안, 고체 상태의 단세포군 anti-TPO 항체는  $^{125}\text{I}$ 로 표지된 TPO(트레이서)의 특이부위에 대한 검체/표준용액의 anti-TPO 항체와 경쟁한다. 흡출과 세척후 시험관내의 방사능은 감마카운터로 측정 되어진다. 결합정도는 검체 anti-TPO 자가항체 농도에 반비례 할 것이다. TPOAb one step의 표준용액은 TMAb 국제적인 참조 표본 MRC65/93과 대조하여 계산되어진다.

## III. 제공되는 시약

번호	명칭	구성	Color Code	재구성
1	Coated tubes 코팅된 시험관	2 x 48	Green	즉시 사용 가능
2	Tracer (재조합된 TPO 트레이서)	1 vial, 22ml	Red	즉시 사용 가능
3	Calibrator 0 표준액 0번	1 vial, 4.2ml	Yellow	즉시 사용 가능
4	Calibrator 1-5 표준액 1-5번	5 vials, 0.7ml/vial	Yellow	즉시 사용 가능
5	Control I, II 정도관리용액 I, II	2 vials, 0.7ml/vial	Silver	즉시 사용 가능
6	Washing Solution Concentration 세척용액 농축액 (50 x 농축)	1 vial, 20ml	Brown	증류수 980ml를 첨가하여 희석

- Controls & Calibrators: 정확한 농도 값을 위해 각 vial에 부착된 라벨에 인쇄된 값을 참고한다.
- 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

- 검체는 혈청 사용을 권장한다.
- 용혈성 또는 지방혈성 검체의 사용은 금한다.
- 측정이 24시간 이내에 이루어진다면 검체는 2-8°C에 저장한다. 장기간 보존을 위해서는 냉동 해동의 반복을 피하기 위해 적당량을 분배한 후 -20°C에 냉동 저장한다.

## 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  $^{125}\text{I}$  (반감기 : 60 일), 이온화 X (28 keV) 및  $\gamma$  (35.5 keV) 방사선을 포함한다. 본 방사선 제품은 허가받은 자에게만 양도 및 사용이 가능하고 구매, 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. 방사성 물질의 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 제영해야 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 파생상품은 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 (\*자동화 장비 : Gamma Pro )

1. Total count(총계수율)을 위한 시험관과 Calibrator, 검체 및 Control를 위한

코팅된 시험관을 준비한다.

2. 피펫으로 Calibrator, Control Serum 및 검체를  $20\mu\text{l}$ 씩 흡입 후 차례대로 코팅된 시험관에 첨가한다.

3. 모든 시험관에 tracer  $200\mu\text{l}$ 씩 첨가한다.

4. 실온( $18\sim25^\circ\text{C}$ )에 150rpm에 설정된 궤도형 쉐이커(orbital shaker)로 90분 동안 반응 시킨다.

5. Total count(총계수율)을 제외한 각 시험관의 내용물을 흡입한다.

6. Total count(총계수율)을 제외한 각 시험관에 2ml의 50배 희석 된 세척용액을 첨가한 후 흡입 또는 흡착 용지로 모든 시험관의 내용물을 완전히 제거한다.

7. 1분 동안 gamma counter로 시험관에 결합된 방사능을 측정한다. 측정 전, 계수기 배경 방사능을 측정하는 것을 권한다. 배경 방사능을 최소화하거나 조정하는 것이 정확한 측정에 도움이 된다.

### [비고]

환자의 검체 중 높은 anti-TPO 값(>1000 IU/ml)이 예상되는 경우, 검체를 희석해야 하며 희석액은 zero calibrator를 사용해야 한다.  
그 이외의 buffer 사용을 금한다.

## VII. 결과 산출

$$1. \text{ Binding capacity} = \frac{B_0}{T} \% = \frac{B_0 \text{ cpm}}{T \text{ cpm}} \times 100$$

2. Calibrators, Controls ||의 결합

$$\text{Binding} (\%) = \frac{B}{B_0} \% = \frac{\text{Calibrator 또는 검체 cpm}}{B_0 \text{ cpm}}$$

각 표준용액의  $B/B_0$  (%) (y축)에 표준곡선을 그린다. 각 검체의  $B/B_0$  (%)를 계산하고 TPO Ab 농도(단위 IU/ml)는 보간법으로 표준곡선에서 산출한다

## VIII. 참고치

60 IU/ml 보다 낮은 경우:	anti-TPO autoantibody에 대해 음성
60 - 80 IU/ml 경우:	Borderline
80 IU/ml 보다 높은 경우:	anti-TPO autoantibody에 대해 양성

# DIAsource TPO Ab-RIA

## [체외진단의료기기]

### IX. 계산의 예

다음 자료는 예시일 뿐, 실제 표준곡선을 대신하여 사용해서는 안 된다.

항목	Average cpm	B/B0 (%)	TPO Ab 농도 (IU/ml)
Total Activity (T)	46591	-	-
Calibrator 0	15003	100	0
Calibrator 1	10978	73.2	40
Calibrator 2	6798	45.3	80
Calibrator 3	4408	29.4	150
Calibrator 4	1693	11.3	400
Calibrator 5	606	4.0	1000
Control 1	5481	36.5	108
Control 2	1926	12.8	353
P1	10736	71.6	40.7
P2	4085	27.2	157
P3	1037	6.9	629

### X. 완제품 시험규격

#### 1. 외관검사

제조원의 품질관리표준지침서(문서번호PRO-RCD-01)에 따라 확인

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

#### 2. 성능시험

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

- (1) 총계수 (total activity)가 정해진 범위 (45000-55000CPM)<sup>1)</sup> 안에 들어오는지 확인
- (2) 보정물질 0의 결합력이 정해진 범위 (30.0-100%)<sup>1)</sup> 안에 들어오는지 확인
- (3) 마지막 보정물질의 값이 정해진 범위 (2.7-8.1%)<sup>1)</sup> 안에 들어오는지 확인
- (4) 정도관리물질의 값이 정해진 범위
  - a. 정도관리물질1 : 78.0-118.0U/mL<sup>1)</sup> 안에 들어오는지 확인
  - b. 정도관리물질2 : 295.0-442.0U/mL<sup>1)</sup> 안에 들어오는지 확인
- (5) 내부 혹은 외부 정도관리 결과가 정해진 범위 (0.0-29.0 U/mL, 57.0-92.0 U/mL, 127-335 U/mL, 476.0-807.0 U/mL)<sup>1)</sup> 안에 들어오는지 확인

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

### XI. 사용시 주의사항

1. 체외진단용으로만 사용하여야 하며, 체외진단용 이외 흡입이나 체내 투여 등을 금지한다.
2. 동 제품에 포함된 방사성동위원소 취급 시 다음 사항을 준수하여야 한다.
  - (1) 방사성동위원소는 지정된 장소에 보관하며, 관련 법령에 따라 자격을 갖춘자가 지정된 장소에서 사용한다.
  - (2) 방사성동위원소를 취급할 때 안전에 영향을 주는 불필요한 행동을 하지 않는다. (예, 음식 섭취, 흡연, 화장 등)
  - (3) 방사성동위원소를 포함한 시약을 분주해야 하는 경우, 입으로 파이펫팅 하지 않는다.
  - (4) 방사성동위원소를 취급할 때에는 장갑 및 실험복을 착용하며, 검사가 완료되면 손을 깨끗이 닦는다.
  - (5) 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.
3. 검사를 실시하기 전에 모든 제품(구성품 포함)은 해당 제품별 검사 온도 조건에 따라 실시한다.
4. 그 밖에 방사성동위원소의 보관, 이동, 사용 및 폐기 등 취급에 관한 사항은 관련 법규에 따른다.
5. 서로 다른 lot의 시약은 혼합하지 않는다.
6. 방사선 안전에 관한 기본 규칙  
방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 방사선 안전 기본 규칙에 대한 염수는 충분한 방호를 제공한다.
  - (1) 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.
  - (2) 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.

#### 7. 아지드화 나트륨

몇몇 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 폭발성 금속 아지드화합물을 형성하기 위해 납, 구리, 황동 반응을 일으킬 수 있다. 배관 계통을 통하여 많은 양의 물을 흘려 보냄으로서 시약을 처분한다.

#### 8. 사람의 혈청

모든 혈액 검체는 질병을 전염시킬 수 있는 것으로 (예를 들면 간염이나 AIDS) 취급하라.

## **11. BIBLIOGRAPHIE—BIBLIOGRAPHY— БІБЛІОГРАФІЯ—BIBLIOGRAFIE—BIBLIOGRAFIA— BIBLIOGRAFIA—BIBLIOGRAFÍA— БИБЛИОГРАФИЯ**

1. Prentice L.M. et al. Geographical distribution of subclinical autoimmune thyroid disease in Britain : A study using highly sensitive direct assays for autoantibodies to thyroglobulin and thyroid peroxidase. *Acta Endocrinologica*, 1990, 123, 493-8.
2. Jaume J.C. et al. Thyroid peroxidase autoantibody epitopic « fingerprints » in juvenile Hashimoto's thyroiditis : evidence for conservation over time and in families. *Clin. Exp. Immunol.*, 1996, 104, 115-123.
3. Czarnocka B. et al. Immunochemical properties of hTPO. *Thyroperoxidase and Thyroid Autoimmunity*, Ed. P. Carayon, J. Ruf. 1990, 207, 59-67.
4. Czarnocka B. et al. Majority of thyroid peroxidase autoantibodies in patients with autoimmune thyroid disease are directed to a single TPO domain. *Autoimmunity*, 1996, 23, 145-154.
5. Takamatsu J. et al. Correlation of antithyroglobulin and antithyroid-peroxidase antibody profiles with clinical and ultrasonic characteristics of chronic thyroiditis. *Thyroid*, 1998, 8, 1101-6.
6. Smyth P. et al. Serum thyroid peroxidase autoantibodies, thyroid volume, and outcome in breast carcinoma. *J. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83, 2711-6.
7. Gauna A. et al. Immunological aspects of Graves' disease patients in different clinical stages. *J. Endocrinol. Invest.*, 1989, 12, 671-7.
8. Stagnaro-Green A. et al. Detection of at-risk pregnancy by means of highly sensitive assays for thyroid autoantibodies. *JAMA*, 1990, 264, 1422-5.

Physikalisches Daten of  $^{125}\text{I}$

Physical characteristics of  $^{125}\text{I}$

Características físicas  $^{125}\text{I}$

φυσικά χαρακτηριστικά του  $^{125}\text{I}$

Caractéristiques physique de  $^{125}\text{I}$

Caratteristica fisica  $^{125}\text{I}$

Fysieke kenmerken van  $^{125}\text{I}$

Charakterystyka fizyczna I-125

Características físicas  $^{125}\text{I}$

Физични характеристики на  $^{125}\text{I}$

$t_{1/2} = 59.9$  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)	%
$\gamma$	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25