

ZenTech



RIAZENco TG Ab

Deutsch	(de)
English	(en)
Español	(es)
Ελληνικά	(el)
Français	(fr)
Italiano	(it)
Nederlands	(nl)
Polski	(pl)
Portuges	(pt)
БЪЛГАРСКИ	(bg)

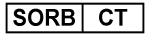
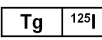
ZenTech s.a.

Liège Science Park
Avenue du Pré-Aily 10,
4031 ANGLEUR, Belgium
Tel. : + 32-(0)4-361.42.32
Fax : + 32-(0)4-367.00.63

info@zentech.be

www.zentech.be

ISO15223	SYMBOLS FÜR MEDIZINPRODUKTE	MEDICAL DEVICES SYMBOL	SÍMBOLOS PARA APARATOS DE USO EN MEDICINA	ΣΥΜΒΟΛΟ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΥΣΚΕΥΩΝ ΚΑΤΑ	SYMBOLS APPLIQUÉS AUX DISPOSITIFS MÉDICAUX	SIMBOLI DISPOSITIVI MEDICI	SYMBOL CONFORM MEDISCHE HULPMIDDELEN	SYMBOL URZĄDZENIA MEDYCZNEGO	SÍMBOLOS DE DISPOSITIVO MÉDICO	СИМВОЛИ НА МЕДИЦИНСКАТА АПАРАТУРА
	LIMITIERUNG DER LAGERTEMPORATUR	STORAGE TEMPERATURE LIMITATION	LIMITES DE TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO	ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΦΥΛΑΞΗΣ	LIMITES DE TEMPERATURES	Conservare a	TEMPERATUURLIMIET	OGRANICZENIA TEMPERATURY PRZECHOWYWANIA	LIMITE DA TEMPERATURA DE ARMAZENAGEM	ОГРАНИЧАВАНЕ ТЕМΠΕΡΑΤУРАТА НА СЪХРАНЕНИЕ
	CHARGENCODE	BATCH CODE	CÓDIGO DE LOTE	ΚΩΔΙΚΟΣ ΠΑΡΤΙΔΑΣ	NUMERO DE LOT	Lotto	LOT NUMMER	KOD SERII	LOTE	ΠΑΡΤΙΔΕΝ НОМЕР
	VERWENDBAR BIS	USE BY	CONSUMIR ANTES DE	ΗΜΕΡΟΜ. ΛΗΞΗΣ	DATE D'EXPIRATION	Data di scadenza	HOUDBAAR TOT	ZUŻYC PRZED	UTILIZADO POR	СРОК НА ГОДНОСТ
	DAS HANDBUCH ZU RATE ZIEHEN	CONSULT OPERATING INSTRUCTIONS	CONSULTAR LAS INSTRUCCIONES DE MANEJO O FUNCIONAMIENTO	ΑΝΑΤΡΕΨΤΕ ΣΤΙΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ	LIRE LES INSTRUCTIONS	Consulti l'istruzione per l'uso	RAADPLEEG DE GEBRUIKSAANWIJZING	ZAPOZNAĆ SIĘ Z INSTRUKCJĄ	CONSULTE O MANUAL DE OPERAÇÕES	ВИЖТЕ ИНСТРУКЦИИТЕ ЗА ЕКСПЛОАТАЦИЯ
	FÜR IN-VITRO-DIAGNOSTISCHE ANWENDUNG	IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE	DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO	ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΗ IN VITRO	DIAGNOSTIC IN VITRO	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	IN VITRO DIAGNOSTISCH PRODUCT	URZĄDZENIE DO DIAGNOSTYKI IN VITRO	DISPOSITIVO DE DIAGNOSTICO IN VITRO	УРЕД ЗА IN VITRO ДΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ
	HERGESTELLT VON	MANUFACTURED BY	FABRICADO POR	ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ	FABRIQUE PAR	Prodotto da	FABRIKANT	PRODUCENT	FABRICADO POR	ΠΡΟΙΖΒΕΔΕΝΟ ОТ
	KATALOG NR.	CATALOGUE NUMBER	NÚMERO DE CATÁLOGO	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΤΑΛΟΓΟΥ	REFERENCE	Numero di catalogo	CATALOGUS NUMMER	NUMER KATALOGOWY	NÚMERO DO CATALOGO	КАΤΑΛΟЖΕΝ НОМЕР

	SYMBOLS (EMPFOHLEN VON DER EDMA)	SYMBOLS (EDMA RECOMMENDATIONS)	SÍMBOLOS (RECOMENDACIONES DE LA EDMA)	ΣΥΜΒΟΛΑ (Συστάσεις EDMA)	SYMBOLS (recommandations EDMA)	SIMBOLI (raccomandazioni EDMA)	SYMBOLS (EDMA-AANBEVELINGEN)	SYMBOLS (ZALECANE PRZEEZ EDMA)	SÍMBOLOS (RECOMENDAÇÕES EDMA)	СИМВОЛИ (ΠΡΕΠΟΡΨΚИ НА EDMA)
	Anzahl der Bestimmungen	number of determinations	Número de determinaciones	Αριθμός προσδιορισμών	Nombre de déterminations (Σ)	Numero di determinazioni	Inhoud voldoende voor "n" tests	Liczba oznaczeń	Número de determinações	БРОЙ ИЗΜΕΡΒΑΝΙΑ
	beschichtete Röhrchen	Coated tubes	Tubos recubiertos	Επιστρωμένα σωληνάκια	Tubes coatés	Tubi cotati	Gecoate buisjes	Probówki z warstwą przeciwciał	Tubos adsorvidos	ΠΟΚΡΙΤΙ ΕΠΡΥΒΕΤΚИ
	Radioactiver Tracer	Radioactive tracer	Trazador radiactivo	Ραδιενεργός ιχνηθέτης	Traceur radioactif	Tracciante radioattivo	Radioactieve tracer	znacznik izotopowy	Marcador radioativo	РАΔΙΟΑΚΤΙΒΕΝ ΤΡΕЙСЪР
	Kalibrator	Calibrator	Calibrador	Βαθμονομητής	Calibrateurs	Calibratore	Kalibrator	Kalibrator	Calibrador	КАΛΙΒΡΑΤΟΡΙ
	Kontrolle	Control	Control	Ορός ελέγχου	Contrôle	Controllo	Controle	Kontrola	Controle	ΚΟΝΤΡΟΛΑ
	Waschlotion zum x-maligen Verdünnen	Wash solution to be diluted n-fold	Solución de lavado que debe diluirse n veces	Διάλυμα πλύσης που πρέπει να αραιωθεί n φορές	Solution de lavage à diluer n fois	Soluzione di lavaggio da diluire in n volte	In n-voud te verdunnen wasoplossing	Roztwór odmywający do n-krotnego rozcieńczenia	Solução de lavagem a ser diluída n X	Изμиващият разтвор трябва да бъде разреден n-пъти.
	RADIOAKTIVES MATERIAL	RADIOACTIVE MATERIAL	MATERIAL RADIOACTIVO	ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΟ ΥΛΙΚΟ	matériel radioactif	MATERIALE RADIOATTIVO	RADIOACTIEF MATERIAAL	MATERIAL PROMIENIOTWORCZY	MATERIAL RADIOACTIVO	РАΔΙΟΑΚΤΙΒΕΝ ΜΑΤΕΡΙΑΛ

DEUTSCH

RADIOIMMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON ANTI-THYREOGLOBULIN AUTOANTIKÖRPER IN HUMANEM SERUM R-CI-100 - 100 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 zwischen 18-24 um ca. 10%, im Alter zwischen 55-65 um ca. 30% für Tg Ab. Für TM Ab im Alter zwischen 18-24 um ca. 15%, im Alter zwischen 55-65 um ca. 24%.

2. TESTPRINZIP

Die vorliegende Methode basiert auf dem kompetitiven Radioimmunoassay (RIA). Während der Inkubation konkurrieren der monoklonale Anti-Tg Antikörper in der festen Phase mit dem Anti-Tg Autoantikörper der Kalibratoren oder der Proben um spezifische Bindungsstellen des mit ¹²⁵I markierten Tg (Tracer). Nach Absaugen und Waschen wird die Radioaktivität in den Röhrchen in einem Gamma-Zähler gemessen. Die gebundene Radioaktivität steht in umgekehrten Verhältnis zur Anti-Tg- Autoantikörperkonzentration der Proben. Die Kalibratoren des Anti-TG-Autoantikörperpestes wurden gegen den TGAb- Standard MRC65/93 standardisiert.

3. MITGELIEFERTES MATERIAL

- Die Reagenzien sind ausreichend für 100 Bestimmungen.
 - Lagern Sie den Kit und die Reagenzien bei 2 – 8° C .
 - Das Verfallsdatum jedes Reagenz ist auf dem Etikett angegeben.
- 1. Radioaktiver Tracer:** 1 Fläschchen enthält 22 ml mit I markiertem Thyreoglobulin, rot eingefärbt. Konservierungsmittel: NaN₃ < 0,1%. Die Radioaktivität beträgt: ± 137 kBq pro Fläschchen.
 - 2. Kalibratoren:**
Nullkalibrator: 1 Fläschchen enthält 4,2 ml. Konservierungsmittel: NaN₃ < 0,1%. Die Lösung ist gebrauchsfertig.
Kalibratoren 1-5: 5 Fläschchen enthalten je 0,7 ml Anti-Tg in humanem Serum mit folgenden Konzentrationen: 20, 60, 200, 1000, 2000 IU/ ml. Konservierungsmittel: NaN₃ < 0,1%.
 - 3. Kontrolle:** 2 Fläschchen mit 0,7 ml anti-TG (humanen Serum). Gebrauchsfertig. **Die Soll-Werte entnehmen Sie bitte dem Qualitätskontroll-Datenblatt.** Konservierungsmittel: NaN₃ < 0,1%.
 - 4. Beschichtete Röhrchen:** 100 Röhrchen beschichtet mit monoklearen Antikörpern, die gegen TG gerichtet sind. Unbenutzte Röhrchen müssen bei 2–8° C, geschützt vor Feuchtigkeit, gelagert werden.
 - 5. Waschlösung (50 x konzentriert):** 1 Fläschchen mit 20 ml TRIS HCl Puffer mit Detergenten. Konservierungsmittel: NaN₃ < 0,1 % . 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.

Dieses radioaktive Material darf nur von Ärzten, klinischen Laboratorien oder Krankenhäusern in Empfang genommen, erworben, besessen oder benutzt werden. Der Gebrauch ist ausschließlich für klinische oder Labor *in vitro* Tests vorgesehen. Er schließt nicht die interne oder externe Verabreichung des Materials oder die Bestrahlung von Menschen oder Tieren ein. Der Erhalt, Erwerb, Besitz, Gebrauch und Transport unterliegt den gesetzlichen Regelungen jedes einzelnen Staates.

Die physikalischen Charakteristika von ¹²⁵I befinden sich am Ende der Gebrauchsanleitung

- 1. SICHERHEITSMASSENNAHMEN:** die folgenden Vorsichtsmaßnahmen sollten beim Umgang mit radioaktivem Material beachtet werden:
 - Lagern Sie radioaktives Material nur in den dafür vorgesehenen Bereichen.
 - Vermeiden Sie Essen, Trinken, Rauchen oder Schminken an Orten, wo mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird.
 - Pipettieren Sie nicht mit dem Mund.
 - Tragen Sie Handschuhe beim Umgang mit radioaktivem Material und waschen Sie anschließend Ihre Hände sorgfältig.
 - Bedecken Sie die Arbeitsfläche mit saugfähigem Papier und entsorgen Sie es nach dem Test.
 - Wischen Sie Verschüttetes sofort und sorgfältig auf und entsorgen Sie das kontaminierte Material als radioaktiven Abfall.
 - Die Entsorgung von radioaktivem Abfall über das sanitäre Abwassersystem ist per Gesetz verboten.

- 2. CHEMISCHES RISIKO NATRIUMAZID (NaN₃) WARNUNG:** einige Reagenzien dieses Kits enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Für alle diese Reagenzien beträgt die Konzentration von Natriumazid <0,09 Gewichtsprozent. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferrohren explosive Metallazidverbindungen bilden. Spülen Sie bei der Entsorgung aller nichtradioaktiven Reagenzien über das Leitungssystem mit großen Wassermengen nach.

Risikosatzes

R21/22 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken.

Sicherheitssatzes

S-26 Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.

S-28.1 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser

S-46 Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder Etikett vorzeigen.

- 3. WARNUNG VOR POTENTIELLEM BIOLOGISCHEN RISIKOMATERIAL:** Dieser Kit kann einige Reagenzien enthalten, die mit menschlichem Serum oder Plasma gewonnen wurden. Das verwendete Serum oder Plasma wurde mit einer FDA-zugelassenen Methode als nichtreaktiv gegen HIV-1/2 Antikörper, HCV und HbsAg getestet. Da keine Methode eine vollständige Sicherheit für die Abwesenheit von HIV -1/2, HCV, HbsAg oder anderen infektiösen Wirkstoffen garantieren kann, sollten die Reagenzien als biologisches Risikomaterial der Stufe 2 behandelt werden, wie es für alle potentiell infektiösen menschlichen Serum- oder Blutproben in dem Handbuch der nationalen Gesundheitsbehörden „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“, 3.Edition 1993 vorgeschrieben ist.

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 gebracht werden.
 - Vor Gebrauch müssen die Proben durch Schwenken gemischt werden.
 - Für alle Kalibratoren wird eine doppelte Messung empfohlen.
1. Bereiten Sie leere Röhrchen für die Total Counts und beschichtete Röhrchen für die Kalibratoren, Proben und Kontrollen vor.
 2. Pipettieren Sie **20µl** des jeweiligen Kalibrators, der Kontrollen und der Proben in die dafür vorgesehenen Röhrchen.
 3. Geben Sie in alle Röhrchen **200µl** des radioaktiven Tracers.
 4. Mischen Sie die Röhrchen auf einem Vortexmixer und inkubieren Sie **90 Minuten** bei Raumtemperatur auf einem Orbitalschüttler bei 150 rpm.
 5. Saugen Sie den Inhalt der Röhrchen ab, außer den der Röhrchen für die Total Counts.
 6. Geben Sie **2 ml** der verdünnten Waschlösung in alle Röhrchen ausser in den Röhrchen für die Total Counts. Saugen Sie den Inhalt aller Röhrchen gründlich ab oder schütten Sie ihn vorsichtig auf ein 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-Tg Werte (>2000 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 Puffer.**

VERSUCHSSCHEMA

Röhrchen Reagenzien	Totalaktivität	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., Schütteln (150 rpm)
 - Absaugen und Waschen: 1x 2ml
 - Zählen

8. KALKULATION DER RESULTATE

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

KALKULATIONSBEISPIEL

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

Beschreibung	Durchschnittlicher cpm	B/B ₀ (%)	TG Ab (IU/ml)
Totalaktivität (T)	57953	-	-
CAL 0	28090	100	0
CAL 1	24340	86,6	20
CAL 2	16927	60,3	60
CAL 3	9706	34,5	200
CAL 4	4100	14,6	1000
CAL 5	2048	7,3	2000
CONTROL 1	10843	38,6	158,2
CONTROL 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

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

9. REFERENZWERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzintervalle bestimmt. Die unten aufgeführten Werte sind lediglich indikativ.

Niedriger als 30 IU/ml	Negativ für Thyreoglobulin-Autoantikörper
Zwischen 30 - 70 IU/ml	Grenzwert
Höher als 70 IU/ml	Positiv für Thyreoglobulin-Autoantikörper

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 6 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-Thyreoglobulin-Autoantikörpern ist dieser Wert kleiner als 15 IU/ml.

PRÄZISION

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

Intra-assay

Serum	durchschnittliche (UI/ml)	±	S.D.	V.K. %	N
1	72,6	±	6,0	8,3	20
2	345,7	±	24,7	7,1	20
3	889,9	±	51,0	5,7	20

Inter-assay

Serum	durchschnittliche (UI/ml)	±	S.D.	V.K. %	N
1	90,3	±	8,4	9,3	9
2	390,0	±	49,8	12,8	9
3	985,4	±	104,9	10,6	9

GENAUIGKEIT

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

Wiederfindungs - Test

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

ENGLISH

RADIOIMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE ANTI-THYROGLOBULIN AUTOANTIBODIES IN HUMAN SERUM R-CI-100 - 100 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 TMAb.

2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The present method is based on a competitive radioimmunoassay (RIA). During the incubation, the monoclonal anti-Tg antibody on solid phase competes with the sample/calibrator anti-Tg autoantibodies for the specific sites of the Iodine¹²⁵ labelled Tg (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-Tg autoantibody concentration.

The calibrators of RIAZENco TG Ab are calibrated against the TgAb international reference preparation MRC65/93.

3. REAGENTS PROVIDED WITH THE KIT

- The reagents are sufficient for 100 determinations.
- Store the kit and reagents at 2-8°C.
- The expiration date of each reagent is shown on the label.

- 1 - Radioactive Tracer:** 1 vial containing 22 ml of iodinated thyroglobulin, red color coded. Radioactivity content : ± 137 kBq per vial. Preservative: NaN_3 (<0.1%).
- 2 - Calibrators: Zero Calibrator:** 1 vial containing 4.2 ml. Preservative: NaN_3 (<0.1%). Ready for use.
Calibrators 1 to 5: 5 vials containing 0.7 ml of anti-Tg (human serum), at the following concentrations: 20, 60, 200, 1000, 2000 IU/ml. Preservative: NaN_3 (<0.1%).
- 3 - Controls:** 2 vials containing 0.7 ml of anti-Tg (human serum). **For the exact value, refer to the value written on the Quality Control data sheet.** Preservative: NaN_3 (<0.1%).
- 4 - Coated Tubes:** 100 tubes coated with mouse monoclonal anti-Tg antibodies. Unused tubes must be stored at 2-8°C, protected from moisture.
- 5 - Washing Solution (50 x concentrated):** 1 vial of 20 ml Tris-HCl buffer with detergent and preservative NaN_3 (<0.1%). Bring to 1000 ml with distilled water. 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

For *in vitro* diagnostic use.

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

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

	erwartete Werte (nmol/l)	gemessene Werte (nmol/l)	Wiederfindung (%)
S1	-	50,4	-
S1 + KAL 0	25,2	32,0	127,0
S1 + KAL 1	35,2	39,1	111,1
S1 + KAL 2	55,2	59,6	108,0
S1 + KAL 3	125,2	111,8	89,3
S1 + KAL 4	525,2	392,4	74,7
S1 + KAL 5	1025,2	1251,1	122,0
S2	-	102,9	-
S2 + KAL 0	51,5	63,9	124,1
S2 + KAL 1	61,5	64,2	104,4
S2 + KAL 2	81,5	84,7	103,9
S2 + KAL 3	151,5	133,0	87,8
S2 + KAL 4	551,5	367,2	66,6
S2 + KAL 5	1051,5	1261,3	120,0

Parallel – Test

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

Verdünnung	erwartete Werte nmol/l	gemessene Werte nmol/l	Wiederfindung
S1 unverdünnt	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

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

Diese Produktinformation ist unter www.zentech.be verfügbar.

This radioactive material may be received, acquired, possessed, and used only by physicians, clinical laboratories or hospitals and only for *in vitro* clinical or laboratory tests not involving internal or external administration of the material, or the radiation there from to human beings or animals. Its receipt, acquisition, possession, use and transfer are subject to the regulations of each country.
Physical characteristics of ¹²⁵I: see end of instructions

- Safety Precautions:** The following precautions should be observed in handling radioactive material:
 - o Store radioactive materials in a designated area.
 - o Do not eat, drink, smoke or apply cosmetics where radioactive materials are being handled.
 - o Do not pipette by mouth.
 - o Wear gloves when handling radioactive materials and wash hands thoroughly afterwards.
 - o Cover working area with disposable absorbent paper.
 - o Wipe up all spills immediately and thoroughly and dispose of the contaminated materials as radioactive waste.
 - o Dispose of the liquid radioactive waste into the sanitary sewage system if permitted by the local regulations.

- CHEMICAL HAZARD Sodium Azide (NaN₃) Warning:** Some of the reagents in this kit contain sodium azide as a preservative. For all such reagents, the concentration of sodium azide is <0.09% w/w. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. Dispose of all non radioactive reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

Risk Phrases

R 21/22 Harmful in contact with skin and if swallowed.

Safety Phrases

S-26 In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

S-28.1 After contact with skin, wash immediately with plenty of water.

S-46 If swallowed seek medical advice immediately and show the container or label.

- POTENTIAL BIOHAZARDOUS MATERIAL Warning:** This kit may contain some reagents made with human serum or plasma. The serum or plasma used has been tested by an FDA-approved method and found to be non-reactive for HIV-1/2 Antibodies, HCV and HBsAg. Because no method can offer complete assurance that HIV-1/2, HCV, HBsAg or other infectious agents are absent, these reagents should be handled at the Biosafety Level 2 as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 3rd Edition 1993.

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.
 - Before use, mix samples by gentle agitation before use.
 - For all calibrators, a duplicate measure is recommended
- 1- Prepare plain tubes for Total Counts, and coated tubes for Calibrators, Samples and Controls.
 - 2- Pipette **20 µl** of each Calibrator, Control Serums and Samples into the corresponding tubes.
 - 3- Add **200 µl** of Radioactive Tracer into all tubes.
 - 4- Mix the tubes on vortex and incubate for **90 minutes** at room temperature 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-Tg values (> 2000IU/ml) are expected for any patient sample, the original sample should be diluted. The dilution should be done using zero calibrator. **Do not use any buffers for this purpose.**

ASSAY SCHEME

Tubes	Total Activity	Calibrators	Controls	Samples
Reagent				
Calibrators	----	20 µl	----	----
Control	----	----	20 µl	----
Serums				
Samples	----	----	----	20 µl
Tracer	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Mix and incubate: 90 min R.T. shaking (150 rpm)
- Aspirate and wash: 1 x 2 ml
- Count

8. CALCULATION OF RESULTS

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

Percent binding for Calibrators, Controls and Samples =

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

Draw the calibration curve on log/lin graph by plotting the B/B_o% obtained for each calibrator (y-axis) against the relative concentration (x-axis). Calculate the B/B_o% of each sample and read the anti-Tg 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/B _o (%)	TG Ab conc. (IU/ml)
Total Activity (T)	57953	-	-
Cal 0	28090	100	0
Cal 1	24340	86.6	20
Cal 2	16927	60.3	60
Cal 3	9706	34.5	200
Cal 4	4100	14.6	1000
Cal 5	2048	7.3	2000
CONTROL 1	10843	38.6	158.2
CONTROL 2	5757	20.5	604.7
P1	13998	49.8	91.5
P2	6634	23.6	464.8
P3	4270	15.2	942.9

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 30 IU/ml	Negative for anti-Thyroglobulin auto-antibodies.
Between 30 - 70 IU/ml	Borderline
Higher than 70 IU/ml	Positive for anti-Thyroglobulin auto-antibodies.

10. PERFORMANCES OF THE ASSAY

SPECIFICITY

No cross-reactions have been observed with anti-TPO 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 Calibration (mean value - 2 S.D.). This dose is 6 IU/ml.

Functional sensitivity

The functional assay sensitivity is the lowest value which is measured with a precision of maximum 20% inter-assay variance. For the anti-thyroglobulin autoantibodies, this value is lower than 15 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
A	72.6	±	6.0	8.3	20
B	345.7	±	24.7	7.1	20
C	889.9	±	51.0	5.7	20

Inter-assay

Serum	Mean	± (IU/ml)	S.D.	C.V. %	N
A	90.3	±	8.4	9.3	9
B	390.0	±	49.8	12.8	9
C	985.4	±	104.9	10.6	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.

	Expected (IU/ml)	Measured (IU/ml)	Recovery (%)
S1	-	50.4	-
S1 + CAL 0	25.2	32.0	127.0
S1 + CAL 1	35.2	39.1	111.1
S1 + CAL 2	55.2	59.6	108.0
S1 + CAL 3	125.2	111.8	89.3
S1 + CAL 4	525.2	392.4	74.7
S1 + CAL 5	1025.2	1251.1	122.0
S2	-	102.9	-
S2 + CAL 0	51.5	63.9	124.1
S2 + CAL 1	61.5	64.2	104.4
S2 + CAL 2	81.5	84.7	103.9
S2 + CAL 3	151.5	133.0	87.8
S2 + CAL 4	551.5	367.2	66.6
S2 + CAL 5	1051.5	1261.3	120.0

Parallelism Test

A serum with high analyte concentration was tested at different dilutions with the Zero Calibrator.

Dilution	Expected (IU/ml)	Measured (IU/ml)	Recovery (%)
S1 undiluted	-	1109	-
1/2	554.5	586.7	105.8
1/4	277.3	275.0	99.2
1/8	138.6	143.0	103.2
1/16	69.3	82.0	118.3

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

This package insert is downloadable at www.zentech.be

ESPAÑOL

RADIOIMMUNOANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE LOS AUTOANTICUERPOS ANTITIROGLOBULINA EN SUERO HUMANO R-CI-100 - 100 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 de 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 de un 15% entre los 18-24 años hasta un 24% a la edad de 55-65 años, por lo que se refiere al índice de TMAb.

2. PRINCIPIO DEL ANÁLISIS

La metodología de detección utilizada consiste en un radioinmunoanálisis (RIA) competitivo. Durante la incubación, el anticuerpo monoclonal anti-Tg en fase sólida compite con los autoanticuerpos anti-Tg de muestra/calibrador por los lugares específicos de Tg marcada con yodo¹²⁵ (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-Tg de la muestra.

Los calibradores de RIAZENco TG Ab se calibran con respecto a la preparación de referencia internacional de TgAb MRC 65/93.

3. MATERIAL SUMINISTRADO

- Reactivos suficientes para 100 determinaciones.
- Almacene el kit y los reactivos a 2-8°C.
- La fecha de caducidad de cada reactivo se muestra en la etiqueta.

- 1 - Trazador radiactivo:** 1 vial con 22 ml de tiroglobulina yodada, codificada con color rojo. Contenido de radiactividad: ± 137 kBq por vial. Conservante: NaN_3 (<0,1%).
- 2 - Calibradores: Calibrador cero:** 1 vial con 4.2 ml. Conservante: NaN_3 (<0,1%). Listo para el uso
Calibradores 1 a 5: 5 viales con 0,7 ml de anti-Tg (suero humano) en las concentraciones siguientes: 20, 60, 200, 1.000, 2.000 UI/ml. Conservante: NaN_3 (<0,1%).
- 3 - Controles:** 2 viales con 0,7 ml de anti-Tg (suero humano). **Para conocer el valor exacto, consulte la hoja de datos de control de calidad.** Conservante: NaN_3 (<0,1%). Listo para el uso
- 4 - Tubos recubiertos:** 100 tubos recubiertos con anticuerpos anti-Tg monoclonales de ratón. Los tubos que no se usen deberán almacenarse a 2-8°C protegidos de la humedad.
- 5 - Solución de lavado (concentración x 50):** 1 vial de 20 ml de tampón TRIS-HCl con detergente Conservante: NaN_3 < 0,1%. 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.

La compra, solicitud, posesión y uso de este material radioactivo sólo se autoriza a médicos, laboratorios clínicos u hospitales con el propósito exclusivo de realizar pruebas clínicas y de laboratorio *in vitro* que no conlleven la administración del material por vía interna o externa, ni la exposición de seres humanos o animales a sus radiaciones. Su compra, solicitud, posesión, uso y transferencia están sujetos a las normativas de cada país.

Características físicas ¹²⁵I: se encuentran al final

- Medidas de seguridad:** Al manipular material radioactivo es conveniente aplicar las siguientes medidas:
 - o Guarde el material radioactivo en las zonas destinadas a este fin.
 - o No coma, beba, fume ni se maquille en zonas en las que se manipulen materiales radioactivos.
 - o No utilice la pipeta con la boca.
 - o Utilice guantes para manipular materiales radioactivos y lávese las manos cuando termine.
 - o Cubra el área de trabajo con papel secante desechable.
 - o Limpie bien el líquido derramado de inmediato y deseche los materiales contaminados de la misma forma que los residuos radioactivos.
 - o Si las normativas locales lo permiten, puede eliminar los residuos radioactivos líquidos a través del sistema municipal de alcantarillado.

- RIESGOS QUÍMICOS de la azida sódica (NaN₃):** Algunos de los reactivos incluidos en este kit contienen una concentración de azida sódica al <0,09% como conservante. Dado que la azida sódica puede dar lugar a la formación de azidas explosivas de cobre o plomo en las tuberías, se recomienda eliminar los reactivos no radioactivos a través del desagüe mediante abundantes descargas de agua.

Frases de Riesgo

R 21/22 Nocivo en contacto con la piel y por ingestión

Frases de Seguridad

S-26 En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

S-28.1 En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua.

S-46 En caso de ingestión, acuda inmediatamente al médico y muéstrela la etiqueta o el envase.

- MATERIAL CON POSIBLE RIESGO BIOLÓGICO:** Este kit puede contener algunos reactivos elaborados con suero o plasma humano. El resultado obtenido con el método de prueba aceptado por la FDA (Organismo para el control de Alimentos y Medicamentos de EE.UU.) demuestra que el plasma o suero utilizado no es reactivo para anticuerpos HIV-1/2, HCV y HBsAg. Dado que no existe ningún método que garantice la total ausencia de anticuerpos HIV-1/2, HCV y HbsAg, u otros agentes infecciosos, es preciso aplicar el nivel de seguridad biológica 2 al manipular estos reactivos, de conformidad con las recomendaciones relacionadas con las muestras de suero o sangre humana potencialmente infecciosas del manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Seguridad biológica en laboratorios microbiológicos y biomédicos), 3ª Edición, 1993, publicado por los Centros de Control de Enfermedades y el Instituto Nacional de la Salud.

6. RECOGIDA DE MUESTRAS

Sólo se pueden utilizar muestras de suero. Deberán descartarse las muestras demasiado lipémicas o hemolizadas. Mantenga las muestras 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 antes de utilizarlos.

- Antes de su uso, mezcle las muestras por inversión.

- Se recomienda realizar la medida de todos los calibradores por duplicado.

- 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 radioactivo en todos los tubos.
- 4- Mezcle el contenido de los tubos con el vórtex e incube durante **90 minutos** a temperatura ambiente en un agitador orbital 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-Tg (> 2.000 UI /ml) para una muestra de un paciente, deberá diluirse la muestra original. Esta dilución debe realizarse utilizando el calibrador cero. **No utilice ningún tampón para esta operación.**

ESQUEMA DEL ANÁLISIS

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

- Mezclar e incubar 90 min a T° ambiente con agitación (150 rpm)
 - Aspirar o decantar y lavar: 1 x 2 ml
 - Recuento

8. CÁLCULO DE RESULTADOS

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

Porcentaje de unión para calibradores, controles y muestras =

$$\% \text{ unión} = \frac{B}{B_o} \% = \frac{\text{Calibrador o muestra, Cpm}}{B_o \text{ Cpm}} \times 100$$

Trace la curva de calibración sobre una gráfica log/lin a partir de los valores de B/Bo% obtenidos para cada calibrador (eje y) con respecto a la concentración relativa (eje x). Calcule el valor B/Bo% de cada muestra y lea la concentración de anti-Tg en UI/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 ₀ (%)	Conc. TG Ab (UI/ml)
Actividad total (T)	57953	-	-
Cal 0	28090	100	0
Cal 1	24340	86,6	20
Cal 2	16927	60,3	60
Cal 3	9706	34,5	200
Cal 4	4100	14,6	1000
Cal 5	2048	7,3	2000
CONTROL 1	10843	38,6	158,2
CONTROL 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

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

9. VALORES DE REFERENCIA

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

Menos de 30 UI/ml	Negativo en autoanticuerpos antitiroglobulina.
Entre 30 - 70 UI/ml	Intermedio
Más de 70 UI/ml	Positivo en autoanticuerpos antitiroglobulina.

10. RENDIMIENTO DEL ANÁLISIS

ESPECIFICIDAD

No se han observado reacciones cruzadas con autoanticuerpos anti-TPO 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 6 IU/ml.

Sensibilidad funcional

La sensibilidad funcional del análisis es el valor inferior medido con una precisión de un maximo de un 20% de varianza entre análisis. Para los autoanticuerpos antitiroglobulina, este valor es inferior a 15 UI/ml.

PRECISIÓN

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

Intraensayo

Suero	Media	± (UI/ml)	D.E.	C.V. %	N
A	72,6	±	6,0	8,3	20
B	345,7	±	24,7	7,1	20
C	889,9	±	51,0	5,7	20

Entre análisis

Suero	Media	± (UI/ml)	D.E.	C.V. %	N
A	90,3	±	8,4	9,3	9
B	390,0	±	49,8	12,8	9
C	985,4	±	104,9	10,6	9

EXACTITUD

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

Prueba de recuperación

Se analizaron muestras preparadas con volúmenes iguales de cada calibrador.

	Previsto (UI/ml)	Medido (UI/ml)	Recuperación (%)
S1	-	50,4	-
S1 + CAL 0	25,2	32,0	127,0
S1 + CAL 1	35,2	39,1	111,1
S1 + CAL 2	55,2	59,6	108,0
S1 + CAL 3	125,2	111,8	89,3
S1 + CAL 4	525,2	392,4	74,7
S1 + CAL 5	1025,2	1251,1	122,0
S2	-	102,9	-
S2 + CAL 0	51,5	63,9	124,1
S2 + CAL 1	61,5	64,2	104,4
S2 + CAL 2	81,5	84,7	103,9
S2 + CAL 3	151,5	133,0	87,8
S2 + CAL 4	551,5	367,2	66,6
S2 + CAL 5	1051,5	1261,3	120,0

Prueba de paralelismo

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

Dilución	Previsto (UI/ml)	Medido (UI/ml)	Recuperación (%)
S1 sin diluir	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

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

Información disponible en la página web: www.zentech.be.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΡΑΔΙΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΑΝΤΙ-ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ R-CI-100 - 100 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 30% στην ηλικία των 55-65 ετών για τα TgAb και από ποσοστό 15% στην ηλικία των 18-24 ετών έως 24% στην ηλικία των 55-65 ετών για τα TMAb.

2. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο παρών προσδιορισμός βασίζεται σε μία ανταγωνιστική ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA). Κατά τη διάρκεια της επώασης, το μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-Tg της στερεάς φάσης ανταγωνίζεται με τα αυτοαντισώματα αντι-Tg του δείγματος/βαθμονομητή για τις ειδικές θέσεις πάνω στη σημασμένη με Ιώδιο¹²⁵ Tg (ιχνηθέτη). 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-Tg του δείγματος. Οι βαθμονομητές του RIAZENco TG Ab βαθμονομούνται σύμφωνα με το διεθνές παρασκεύασμα αναφοράς TgAb MRC65/93.

3. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

- Τα αντιδραστήρια επαρκούν για 100 προσδιορισμούς.
- Φυλάσσετε το kit και τα αντιδραστήρια στους 2-8°C.
- Η ημερομηνία λήξης κάθε αντιδραστήριου αναγράφεται στην ετικέτα.

- Ραδιενεργός ιχνηθέτης:** 1 φιαλίδιο που περιέχουν 22 ml ιωδιωμένης θυρεοσφαιρίνης με κόκκινη χρωματική κωδικοποίηση. Περιεχόμενο ραδιενέργειας: ± 137 kBq ανά φιαλίδιο. Συντηρητικό: NaN₃ (< 0,1%).
- Βαθμονομητές: Μηδενικός βαθμονομητής:** 1 φιαλίδιο που περιέχει 4.2 ml. Συντηρητικό: NaN₃ (< 0,1%). Έτοιμο για χρήση
Βαθμονομητές 1 έως 5: 5 φιαλίδια που περιέχουν 0,7 ml αντι-Tg (ανθρώπινο ορό), στις ακόλουθες συγκεντρώσεις: 20, 60, 200, 1000, 2000 IU/ml. Συντηρητικό: NaN₃ (< 0,1%).
- Οροί ελέγχου:** 2 φιαλίδια που περιέχουν 0,7 ml αντι-Tg (ανθρώπινο ορό). **Για την ακριβή τιμή, ανατρέξτε στην τιμή που αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων Ποιοτικού Ελέγχου.** Συντηρητικό: NaN₃ (< 0,1%). Έτοιμο για χρήση
- Επιστρωμένα σωληνάρια:** 100 σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικά αντισώματα αντι-Tg ποντικών. Τα μη χρησιμοποιημένα σωληνάρια πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8°C, προστατευμένα από την υγρασία.
- Διάλυμα πλύσης (συμπυκνωμένο σε αναλογία 50 x):** 1 φιαλίδιο με 20 ml ρυθμιστικό διαλύματος TRIS-HCl με απορρυπαντικό και συντηρητικό: NaN₃ < 0,1%. Συμπληρώστε με απεσταγμένο νερό μέχρι τα 1000 ml. Το αραιωμένο διάλυμα πλύσης είναι σταθερό για 2 μήνες στους 2-8°C.

4. ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Πλαστικά δοκιμαστικά σωληνάρια
- Βάσεις δοκιμαστικών σωληναρίων.
- Ρυθμιζόμενες, αυτόματες μικροπιπέτες με αναλυσίμα ρύγχη.
- Αναμείκτης στροβιλισμού (τύπου vortex)

- Διαβαθμισμένος κύλινδρος.
- Αντλία αναρρόφησης ή αυτοματοποιημένη συσκευή πλύσης.
- Μετρητής σπινθηρισμών γ ακτινοβολίας.
- Απεσταγμένο νερό.
- Αναδευτήρας τροχιακής κίνησης ρυθμιζόμενος στα 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).

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

Αυτό το ραδιενεργό υλικό μπορεί να παραλαμβάνεται, να αποκτάται, να κατέχεται και να χρησιμοποιείται μόνον από ιατρούς, κλινικά εργαστήρια ή νοσοκομεία και μόνο για *in vitro* κλινικές ή εργαστηριακές εξετάσεις, οι οποίες δεν περιλαμβάνουν εσωτερική ή εξωτερική χορήγηση του υλικού ή της ακτινοβολίας του σε ανθρώπους ή ζώα. Η παραλαβή, λήψη, κατοχή, χρήση και μεταβίβασή του υπόκεινται στους κανονισμούς κάθε χώρας.

Φυσικά χαρακτηριστικά του ¹²⁵I: βλ. τέλος των οδηγιών

- Προφυλάξεις για την ασφάλεια:** Οι ακόλουθες προφυλάξεις θα πρέπει να τηρούνται κατά το χειρισμό ραδιενεργού υλικού:
 - ο Να φυλάσσετε τα ραδιενεργά υλικά σε καθορισμένο χώρο.
 - ο Μην τρώτε, μην πίνετε, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο όπου γίνεται χειρισμός ραδιενεργών υλικών.
 - ο Μη διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας.
 - ο Μη φοράτε γάντια όταν χειρίζεστε ραδιενεργά υλικά και να πλένετε καλά τα χέρια σας στη συνέχεια.
 - ο Να καλύπτετε την περιοχή εργασίας με απορροφητικό χαρτί μίας χρήσης.
 - ο Να σκουπίζετε αμέσως και καλά όλα τα χυμένα υλικά και να απορρίπτετε τα μολυσμένα υλικά ως ραδιενεργά απόβλητα.
 - ο Να απορρίπτετε τα υγρά ραδιενεργά απόβλητα στο υγειονομικό σύστημα αποχέτευσης, αν αυτό επιτρέπεται από τους τοπικούς κανονισμούς.
- ΧΗΜΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ Αζίδιο του νατρίου (NaN₃) Προειδοποίηση:** Μερικά από τα αντιδραστήρια που περιλαμβάνονται στο kit αυτό περιέχουν αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Για όλα τα εν λόγω αντιδραστήρια, η συγκέντρωση του αζιδίου του νατρίου είναι <0,09% w/w. Το αζίδιο του νατρίου ενδέχεται να αντιδράσει με το μόλυβδο και το χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων με αποτέλεσμα το σχηματισμό αζιδίων μετάλλων. Απορρίψτε όλα τα μη ραδιενεργά αντιδραστήρια ξεπλένοντας με άφθονο νερό μέσω του συστήματος της αποχέτευσης.
Φράσεις που αφορούν κινδύνους
R 21/22 Επιβλαβές σε επαφή με το δέρμα και σε περίπτωση κατάποσής.
Φράσεις που αφορούν την ασφάλεια
S-26 Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, πλύνετε τα αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή.
S-28.1 Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα, πλυθείτε αμέσως με άφθονο νερό.
S-46 Σε περίπτωση κατάποσης ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή και δείξτε αυτό το δοχείο ή την ετικέτα.

- ΠΙΘΑΝΩΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟ ΥΛΙΚΟ Προειδοποίηση:** Το kit αυτό μπορεί να περιέχει μερικά αντιδραστήρια παρασκευασμένα με ανθρώπινο ορό ή πλάσμα. Ο ορός ή το πλάσμα που χρησιμοποιήθηκε έχει ελεγχθεί με μέθοδο εγκεκριμένη από τον FDA και έχει βρεθεί ότι δεν είναι δραστικός για αντισώματα έναντι HIV-1/2, HCV και HBsAg. Επειδή καμία μέθοδος δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διασφάλιση ότι δεν υπάρχουν οι ιοί HIV-1/2, HCV, HBsAg ή άλλοι μολυσματικοί παράγοντες, ο χειρισμός αυτών των αντιδραστηρίων θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με το Επίπεδο Βιολογικής Ασφάλειας 2 όπως συνιστάται για οποιοδήποτε ενδεχομένως μολυσματικό ανθρώπινο ορό ή δείγμα αίματος στο εγχειρίδιο των Κέντρων Ελέγχου Νόσων/Εθνικών Ινστιτούτων Υγείας με τίτλο "Βιολογική ασφάλεια σε μικροβιολογικά και βιοχημικά εργαστήρια" (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories), 3^η έκδοση 1993.

6. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο δείγμα ορού. Υψηλά λιπαιμικά 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 επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων θα πρέπει να αποφεύγεται.

7. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΘΟΔΟΥ:

- Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
 - Πριν από τη χρήση, αναμείξτε τα δείγματα με απαλή ανάδευση.
 - Για όλους τους βαθμονομητές, συνιστάται διπλή μέτρηση.
- 1 - Προετοιμάστε απλά σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("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 - Προσθέστε 200 µl ραδιενεργού ιχνηθέτη σε όλα τα σωληνάρια.
 - 4 - Αναμείξτε τα σωληνάρια σε vortex και επώαστε επί 90 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με αναδευτήρα τροχιακής κίνησης στις 150 rpm.
 - 5 - Αναρροφήστε το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου, με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total").
 - 6 - Προσθέστε 2 ml αραιωμένου διαλύματος πλύσης σε κάθε σωληνάριο, με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("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.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ:
Αν αναμένονται υψηλές τιμές αντι-Tg (> 2000IU/ml) για οποιοδήποτε δείγμα ασθενούς, το αρχικό δείγμα θα πρέπει να αραιώνεται. Η αραιώση θα πρέπει να γίνεται με χρήση μηδενικού βαθμονομητή. Μη χρησιμοποιείτε τυχόν ρυθμιστικά διαλύματα για τον σκοπό αυτό.

ΣΧΗΜΑ ΜΕΘΟΔΟΥ

Σωληνάρια	Μέτρηση ιχνηθέτη ¹²⁵ I (total)	Βαθμονομητές	Οροί ελέγχου	Δείγματα
Αντιδραστήριο				
Βαθμονομητές	----	20 µl	----	----
Οροί ελέγχου	----	----	20 µl	----
Δείγματα	----	----	----	20 µl
Ιχνηθέτης	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Αναμείξτε και επώαστε, 90 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, ανάδευση (150 rpm) - Αναρροφήστε και πλύνετε: 1 x 2 ml - Μετρήστε				

8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Bo

Bo Cpm

Ικανότητα δέσμευσης = $\frac{\text{-----}}{\text{T}}$ % = $\frac{\text{-----}}{\text{T Cpm}}$ x 100

Ποσοστό δέσμευσης για βαθμονομητές, ορούς ελέγχου και δείγματα =

B

Bo

Δέσμευση % = $\frac{\text{-----}}{\text{-----}}$ % = $\frac{\text{Cpm βαθμονομητή ή δείγματος}}{\text{Bo Cpm}}$ x 100

Σχεδιάστε την καμπύλη βαθμονόμησης σε χαρτί λογαριθμικών/γραμμικών γραφημάτων αποτυπώνοντας το B/Bo% που υπολογίζεται για κάθε βαθμονομητή (άξονας των y) έναντι της σχετικής συγκέντρωσης (άξονας των x). Υπολογίστε το B/Bo% κάθε δείγματος και διαβάστε τη συγκέντρωση αντι-TG 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/Bo (%)	Συγκ. TG Ab (IU/ml)
Μέτρηση ιχνηθέτη ¹²⁵ I (T)	57953	-	-
Cal 0	28090	100	0
Cal 1	24340	86,6	20
Cal 2	16927	60,3	60
Cal 3	9706	34,5	200
Cal 4	4100	14,6	1000
Cal 5	2048	7,3	2000
ΟΡΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ 1	10843	38,6	158,2
ΟΡΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (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 30 IU/ml	Αρνητικό για αυτοαντισώματα αντι-θυρεοσφαιρίνης.
Μεταξύ 30 - 70 IU/ml	Οριακό
Μεγαλύτερο από 70 IU/ml	Θετικό για αυτοαντισώματα αντι-θυρεοσφαιρίνης.

10. ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Δεν έχουν παρατηρηθεί διασταυρούμενες αντιδράσεις με αυτοαντισώματα αντι-TPO 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 6 IU/ml.

Λειτουργική ευαισθησία

Η λειτουργική ευαισθησία της μεθόδου είναι η χαμηλότερη τιμή που μετράται με ακρίβεια μέγιστης διακύμανσης 20% μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών. Για τα αυτοαντισώματα αντι-θυρεοσφαιρίνης, η τιμή αυτή είναι μικρότερη από 15 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
A	72,6	± 6,0	8,3	20
B	345,7	± 24,7	7,1	20
C	889,9	± 51,0	5,7	20

Μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών

Ορός	Μέση τιμή (IU/ml)	± Τυπ. απόκλιση	Σ.Δ. %	N
A	90,3	± 8,4	9,3	9
B	390,0	± 49,8	12,8	9
C	985,4	± 104,9	10,6	9

ΟΡΘΟΤΗΤΑ

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

Δοκιμασία ανάκτησης

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

	Αναμενόμενη συγκέντρωση (IU/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (IU/ml)	Ανάκτηση (%)
S1	-	50,4	-
S1 + CAL 0	25,2	32,0	127,0
S1 + CAL 1	35,2	39,1	111,1
S1 + CAL 2	55,2	59,6	108,0
S1 + CAL 3	125,2	111,8	89,3
S1 + CAL 4	525,2	392,4	74,7
S1 + CAL 5	1025,2	1251,1	122,0
S2	-	102,9	-
S2 + CAL 0	51,5	63,9	124,1
S2 + CAL 1	61,5	64,2	104,4
S2 + CAL 2	81,5	84,7	103,9
S2 + CAL 3	151,5	133,0	87,8
S2 + CAL 4	551,5	367,2	66,6
S2 + CAL 5	1051,5	1261,3	120,0

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	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

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

Μπορείτε να κατεβάσετε το παρόν ένθετο φυλλάδιο οδηγιών χρήσης μέσω του διαδικτύου από την ιστοσελίδα www.zentech.be

FRANÇAIS

MÉTHODE RADIO-IMMUNOLOGIQUE POUR LA DÉTERMINATION QUANTITATIVE DES ANTICORPS ANTI- THYROGLOBULINE DANS LE SÉRUM HUMAIN R-CI-100 - 100 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-Tg de la phase solide entrent en compétition avec les anticorps anti-Tg de l'échantillon/du calibrateur pour les sites spécifiques de la Tg recombinante marquée à l'I¹²⁵ (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-Tg de l'échantillon. Les calibrateurs des anticorps anti-Tg sont calibrés par rapport à la préparation de référence internationale d'anticorps anti-Tg MRC65/93.

3. RÉACTIFS FOURNIS AVEC LA TROUSSE

- Les réactifs sont suffisants pour 100 déterminations.
- Stocker les trousse et les réactifs entre 2 et 8°C.
- La date d'expiration de chaque réactif est inscrite sur l'étiquette.

- Traceur radioactif:** 1 flacon contenant 22 ml de traceur, Tg¹²⁵, en couleur rouge.
Radioactivité : ± 137 KBq par flacon. Conservateur: NaN₃ (<0,1%).
- Calibrateurs: Calibrateur zéro:** 1 flacon contenant 4,2 ml. Conservateur: NaN₃ (<0,1%). Prêt à l'emploi.
Calibrateurs 1 à 5: 5 flacons contenant 0,7 ml d'anti-Tg (sérum humain), aux concentrations suivantes: 20, 60, 200, 1000 et 2000 UI/ml. Conservateur: NaN₃ (<0,1%).
- Contrôles:** 2 flacons contenant 0,7 ml d'anti-Tg (sérum humain).
Pour la valeur exacte, se référer à la fiche technique du contrôle de qualité. Conservateur: NaN₃ (<0,1%).
- Tubes coatés:** 100 tubes coatés avec des anticorps monoclonaux anti-Tg de souris. Les tubes non utilisés doivent être conservés entre 2 et 8°C, protégés de l'humidité.
- Solution de lavage (concentrée 50 x):** 1 flacon de 20 ml de tampon Tris-HCl avec un détergent et un conservateur NaN₃ (<0,1%). 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. MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Tubes à essai en plastique.
- Portoir pour tubes à essai.
- Micropipettes automatiques réglables avec pointes jetables.
- Vortex.
- Pipettes graduées.
- 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.

Le matériel radioactif ne peut être acheté, commandé et détenu que par du personnel médical, des laboratoires d'analyse, des hôpitaux et uniquement à des fins de diagnostic *in vitro*. Il ne doit en aucun cas être administré par voie interne ou externe à des êtres humains ou des animaux. La réception, l'achat, la possession, l'utilisation et le transfert de ce matériel sont soumis à des réglementations qui peuvent être différentes dans chaque pays.

Caractéristiques physiques de ¹²⁵I : voir fin de la notice

1. Précautions:

Mesures de précaution pour l'utilisation de matériel radioactif :

- Conserver le matériel radioactif dans un endroit prévu à cet effet.
- Ne pas manger, boire, fumer ou appliquer de cosmétiques dans les zones destinées à l'utilisation de matériaux radioactifs.
- Ne pas pipeter la solution radioactive avec la bouche.
- Porter des gants pour manipuler du matériel radioactif et se laver soigneusement les mains après son utilisation.
- Couvrir la zone de travail à l'aide de papier absorbant jetable.
- Toute perte accidentelle de produit radioactif doit être traitée selon les procédures établies.
- Tous les matériaux radioactifs doivent être éliminés selon des systèmes d'élimination conformes aux dispositions prévues par les organismes de contrôle ayant juridiction sur le laboratoire.

2. **Risque chimique - Azoture de sodium (NaN₃):** L'azoture de sodium est utilisé dans les réactifs du kit à une concentration finale ne dépassant pas 0,09%. L'azoture de sodium peut réagir avec les tuyaux d'évacuation en plomb et cuivre en formant des azotures métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination du produit, rincer abondamment à l'eau pour éviter l'accumulation d'azotures.

Phrases de risque

R-21/22 Dangereux si le produit entre en contact avec la peau ou s'il est ingéré

Phrases de sécurité

S-26 En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec une grande quantité d'eau et consulter un médecin.

S-28.1 Après le contact avec les yeux, rincer immédiatement avec une grande quantité d'eau.

S-46 En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer le récipient ou l'étiquette.

3. **Risque biologique - Sérum humain:** Le kit contient des réactifs préparés à l'aide de sérum ou de plasma humain. Le sérum et le plasma employés ont été testés selon une méthode approuvée par la FDA. Ils sont négatifs à la présence d'anticorps HIV-1/2, HCV et HbsAg. Toutefois, aucune méthode ne permet d'établir avec certitude que le HIV-1/2, HCV, HbsAg ou d'autres agents infectieux sont absents. Ces réactifs devraient donc être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec les précautions appliquées pour les échantillons de sérum ou de plasma au Biosafety Level 2 et selon les dispositions du manuel sanitaire CDC (Centers for Disease Control/National Institutes of Health), «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories», 3^{ème} Edition, 1993.

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.
 - Mélanger les échantillons en les agitant doucement (avant de les utiliser).
 - Pour tous les calibrateurs, un dosage en double est recommandé.
- Préparer des tubes non coatés pour l'activité totale et des tubes coatés pour les calibrateurs, les échantillons et les contrôles.
 - Pipeter **20 µl** de chaque calibrateur, contrôle et échantillon dans les tubes correspondants.
 - Ajouter **200 µl** du traceur radioactif dans tous les tubes.
 - Mélanger les tubes au vortex et incubé pendant **90 minutes** à température ambiante sur un agitateur orbital réglé à 150 tpm.
 - Aspirer le contenu de chacun des tubes excepté les tubes pour l'activité totale.
 - 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.
 - 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-Tg (> 2000 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	Contrôles	Échant.
Calibrateur	----	20 µl	----	----
Contrôles	----	----	20 µl	----
Échantillons	----	----	----	20 µl
Traceur	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Incubation: 90 min. T° ambiante sous agitation (1 50 tpm)
- Aspiration et lavage : 1 x 2 ml
- Comptage

8. CALCUL DES RESULTATS

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

Pourcentage de liaison pour les Calibrateurs, Contrôles et échantillons =

$$\text{Liaison } (\%) = \frac{B}{B_0} (\%) = \frac{\text{Cpm du Calibrateur ou de l'échantillon}}{\text{Cpm du } B_0} \times 100$$

Tracer la courbe d'étalonnage sur un papier logarithmique en plaçant le B/B₀ (%) obtenu pour chacun des calibrateurs (axe des y) en fonction de la concentration relative (axe des x). Calculer le B/B₀ (%) de chacun des échantillons et lire la concentration des Ac anti-Tg 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/B0 (%)	Conc. en Ac anti-Tg (UI/ml)
Activité totale (T)	57953	-	-
CAL 0	28090	100	0
CAL 1	24340	86,6	20
CAL 2	16927	60,3	60
CAL 3	9706	34,5	200
CAL 4	4100	14,6	1000
CAL 5	2048	7,3	2000
CONTRÔLE 1	10843	38,6	158,2
CONTRÔLE 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

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 30 UI/ml	Négatif pour les auto-anticorps anti-thyroglobuline.
Entre 30 et 70 UI/ml	Limite
Supérieur à 70 UI/ml	Positif pour les auto-anticorps anti-thyroglobuline.

10. PERFORMANCE DU DOSAGE

SPÉCIFICITÉ

Aucune réaction croisée n'a été observée avec les auto-anticorps anti-TPO 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 6 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-thyroglobuline, cette valeur est 15 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
A	72,6	±	6,0	8,3	20
B	345,7	±	24,7	7,1	20
C	889,9	±	51,0	5,7	20

Inter-analyse

Sérum	Moyenne (UI/ml)	±	D.S.	C.V. (%)	N
A	90,3	±	8,4	9,3	9
B	390,0	±	49,8	12,8	9
C	985,4	±	104,9	10,6	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 calibreur, ont été testés.

	Prévu (UI/ml)	Mesuré (UI/ml)	Récupération (%)
S1	-	50,4	-
S1 + CAL 0	25,2	32,0	127,0
S1 + CAL 1	35,2	39,1	111,1
S1 + CAL 2	55,2	59,6	108,0
S1 + CAL 3	125,2	111,8	89,3
S1 + CAL 4	525,2	392,4	74,7
S1 + CAL 5	1025,2	1251,1	122,0
S2	-	102,9	-
S2 + CAL 0	51,5	63,9	124,1
S2 + CAL 1	61,5	64,2	104,4
S2 + CAL 2	81,5	84,7	103,9
S2 + CAL 3	151,5	133,0	87,8
S2 + CAL 4	551,5	367,2	66,6
S2 + CAL 5	1051,5	1261,3	120,0

Test de parallélisme.

Des sérums 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	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

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

Ce mode opératoire peut être téléchargé sur notre site www.zentech.be

ITALIANO

DOSAGGIO RADIOIMMUNOLOGICO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DEGLI AUTOANTICORPI ANTI-TIREOGLOBULINA NEL SIERO UMANO R-CI-100 – 100 Determinazione

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

1. APPLICAZIONI CLINICHE

L'autoimmunità tiroidea è più frequentemente riscontrata nelle donne. La prevalenza di anticorpi nelle donne aumenta con l'età, con un incremento che varia approssimativamente dal 10 % all'età di 18-24 anni fino al 30 % all'età di 55-65 per il TgAb e dal 15% all'età di 18-24 anni fino al 24% all'età di 55-65 per il TMAb.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il presente metodo consiste in un dosaggio radioimmunologico competitivo (RIA). Durante l'incubazione, l'anticorpo monoclonale anti-Tg adsorbito sulla fase solida compete con l'autoanticorpo anti-Tg del calibratore/campione per i siti specifici del Tg marcato con iodio¹²⁵ (coniugato). Dopo l'aspirazione e il lavaggio, la radioattività nelle provette viene misurata con un contatore gamma. Il grado di legame sarà inversamente proporzionale alla concentrazione dell'autoanticorpo anti-Tg del campione.

I calibratori degli autoanticorpi anti-Tg sono calibrati sulla preparazione Internazionale di Riferimento di TgAb, MRC65/93.

3. REAGENTI CONTENUTI NEL KIT:

- I reagenti sono sufficienti per 100 determinazioni.
- Il kit deve essere conservato a 2-8°C.
- La data di scadenza di ciascun reagente è indicata sull'rispettiva etichetta.

- 1. Tracciante Radioattivo:** 1 flaconi contenenti 22 ml di tireoglobulina iodata, evidenziata con il colore rosso. Contenuto di radioattività: 137 kBq/flacone.
Conservante: NaN_3 (<0.1 %).
- 2. Calibratori: Calibratore Zero:** 1 flacone, 4.2 ml. Conservante: NaN_3 (<0.1%). Pronto per l'uso. **Calibratori da 1 a 5:** 5 flaconi contenenti 0.7 ml di anti-Tg (siero umano), alle seguenti concentrazioni: 20, 60, 200, 1000, 2000 IU/ml. Conservante: NaN_3 (<0.1%)
- 3. Sieri di Controllo:** 2 flaconi contenenti 0.7 ml di anti-Tg (siero umano). **Per la concentrazione esatta far riferimento al valore riportato sulla scheda dati del Controllo Qualità.** Pronto per l'uso. Conservante: NaN_3 (<0.1%)
- 4. Provette Sensibilizzate:** 100 provette sensibilizzate con anticorpi monoclonali di topo anti-Tg. Le provette non utilizzate devono essere conservate a 2-8°C, protette dall'umidità.
- 5. Soluzione di Lavaggio (concentrata 50X):** 1 flacone di 20 ml di Tampone Tris-HCl con detergente e conservante (NaN_3 : <0.1%). Portare a 1000 ml con acqua distillata. La diluizione della soluzione di lavaggio rimane stabile per 2 mesi a 2-8°C.

4. MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- Provette in plastica
- Portaprovette.
- Micropipette automatiche e regolabili con puntali intercambiabili.
- Vortex
- Cilindro graduato.
- Pompa aspirante oppure apparecchiatura automatica di lavaggio
- Contatore gamma a scintillazione.
- Acqua distillata.
- Agitatore orbitale regolabile a 150 rpm.

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI D'USO

Questo materiale è solo per uso diagnostico *In Vitro*.

Il kit è per solo uso professionale, deve quindi essere esclusivamente utilizzato da personale esperto di laboratorio, in conformità alle norme GLP.

Caratteristica fisica¹²⁵I: vedere alla fine della metodica

- 1. Precauzioni: Materiale Radioattivo- Non per somministrazione interna od esterna ad esseri umani o animali:** Il materiale radioattivo può essere acquistato, ordinato e detenuto solo da personale medico, laboratori di analisi, ospedali ed unicamente per uso diagnostico IN VITRO, non per somministrazione interna od esterna in esseri umani o animali. Il ricevimento, l'acquisto, il possesso, l'uso e il trasferimento di tale materiale è soggetto a regolamentazioni che possono differire da Nazione a Nazione.
Misure precauzionali nell'utilizzo di materiale radioattivo:
 - o Conservare il materiale radioattivo in apposite aree.
 - o Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici nelle aree destinate all'uso di materiali radioattivi.
 - o Non pipettare la soluzione radioattiva con la bocca.
 - o Indossare guanti durante l'utilizzo di materiale radioattivo e lavare accuratamente le mani dopo l'impiego di tale materiale.
 - o Coprire l'area di lavoro con carta assorbente a perdere.
 - o Ogni perdita accidentale di radioattivo deve essere trattata in accordo con le procedure stabilite.
 - o Tutti i materiali radioattivi vanno eliminati in appositi sistemi di smaltimento secondo le disposizioni emesse dagli organi di controllo con giurisdizione sul laboratorio.

- 2. Rischio Chimico - Sodio Azide (NaN_3):** La Sodio Azide è impiegata nei reagenti del kit ad una concentrazione finale non superiore a 0.09% p/p. La Sodio azide può reagire con tubature di scarico in piombo e rame formando azidi metalliche altamente esplosive. Quando si procede all'eliminazione del prodotto sciagare abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di azidi. La Sodio azide è un veleno che può essere fatale se ingerito. Non pipettare il materiale contenente Sodio azide con la bocca. Maneggiare con cura evitando il contatto con la pelle e lavare le mani dopo aver lavorato con materiale contenente Sodio azide.

Fra di rischio

R-21/22 Dannoso a contatto con la pelle e se ingerito

Fra di sicurezza

S-26 In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con tanta acqua e consultare un medico.

S-28.1 Dopo il contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con tanta acqua.

S-46 Se ingerito consultare subito un medico, mostrandogli il contenitore o l'etichetta.

- 3. Rischio Biologico - Siero Umano:** Il kit contiene alcuni reagenti preparati con siero o plasma umano. Il siero e il plasma impiegati sono stati testati con un metodo approvato dalla FDA e sono risultati negativi per la presenza di anticorpi HIV-1/2, HCV e HBsAg. In ogni caso, poiché nessun metodo offre completa assicurazione che HIV-1/2, HCV, HBsAg o altri agenti infettivi siano assenti, questi reagenti dovrebbero essere considerati potenzialmente infettivi e maneggiati con le stesse precauzioni 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", 3rd Edizione, 1993.

6. RACCOLTA DEI CAMPIONI

Si raccomanda di utilizzare siero. Campioni fortemente lipemici o emolizzati devono essere scartati. I campioni devono essere conservati per 1 giorno a 2-8°C; per periodi più lunghi si consiglia di congelare i campioni in aliquote a -20°C. Dovrebbero essere evitati ripetuti congelamenti e scongelamenti dei campioni.

7. PROCEDURA OPERATIVA

- Attendere che tutti reagenti ed i campioni raggiungano la temperatura ambiente.

- Mescolare i campioni agitandoli delicatamente prima dell'uso.
- Per tutti i calibratori si consiglia di effettuare il dosaggio in duplicato.

1. Preparare le 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 ogni Calibratore, Siero di Controllo e Campione nelle provette corrispondenti.
3. Aggiungere **200 µl** di Coniugato Radioattivo in tutte le provette
4. Miscelare le provette su vortex e incubare per 90 minuti a temperatura ambiente in agitazione a 150 rpm.
5. Aspirare il contenuto di ogni provetta, ad eccezione delle provette dell' Attività Totale.
6. Aggiungere **2 ml** di Soluzione di Lavaggio diluita in ogni provetta, ad eccezione di quella dell' Attività Totale e aspirare accuratamente oppure far decantare il contenuto di tutte le provette su carta bibula.
7. Misurare per 1 minuto, con un contatore gamma, la radioattività presente nelle provette. Si raccomanda di controllare il background prima di effettuare il conteggio. Per non variare la sensibilità del sistema è necessario che il background sia ridotto al minimo oppure opportunamente corretto.

NOTA:

Se per qualche paziente sono attesi elevati valori di anti-Tg (>2000UI/ml), il campione originale dovrebbe essere diluito. La diluizione dovrebbe essere effettuata utilizzando il Calibratore Zero. **A tale scopo non utilizzare alcun tampone.**

SCHEMA DEL DOSAGGIO

Provette	Attività Totale	Calibratori	Sieri di Controllo	Campioni
Reagente				
Calibratori	----	20 µl	----	----
Sieri di Controlli	----	----	20 µl	----
Campioni	----	----	----	20 µl
Traccianti	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Miscelare e incubare: 90 min T.A. in agitazione (150 rpm)				
- Aspirare e lavare: 1 x 2 ml				
- Contare la radioattività delle provette per un minuto con un contatore gamma.				

8. CALCOLO DEI RISULTATI

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

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

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

Disegnare la curva di calibrazione su carta millimetrata log/logit riportando sull'asse Y i valori di B/B₀% di ciascun calibratore e sull'asse X il relativo valore di concentrazione. Calcolare la B/B₀% di ogni campione e leggere la concentrazione di anti-TPO espressa in U/ml, mediante interpolazione sulla curva di calibrazione.

ESEMPIO DI CALCOLO

I valori sotto riportati devono essere considerati unicamente a titolo di esempio e non devono essere utilizzati in luogo dei dati sperimentali.

Descrizione	Media cpm	B/B ₀ (%)	Concentrazione TG Ab (IU/ml)
Attività totale (T)	57953	-	-
Cal 0	28090	100	0
Cal 1	24340	86,6	20
Cal 2	16927	60,3	60
Cal 3	9706	34,5	200
Cal 4	4100	14,6	1000
Cal 5	2048	7,3	2000
SIERO CONTROLLO 1	10843	38,6	158,2
SIERO CONTROLLO 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO

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

9. VALORI DI RIFERIMENTO

Si raccomanda ad ogni laboratorio di determinare il proprio intervallo di riferimento. I valori nella tabella seguente sono riportati soltanto a titolo indicativo.

< 30 IU/ml	Negativo per autoanticorpi anti-tireoglobulina.
30-70 IU/ml	Borderline
> 70 IU/ml	Positivo per autoanticorpi anti-tireoglobulina.

10. CARATTERISTICHE METODOLOGICHE

SPECIFICITÀ

Non è stata riscontrata alcuna reazione crociata con gli autoanticorpi anti-TPO presenti nel siero umano.

SENSIBILITÀ

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 di 6 IU/ml.

Sensibilità funzionale

La sensibilità funzionale del metodo è espressa dal valore più basso misurato con una precisione massima del 20 % della varianza inter-saggio. Per gli autoanticorpi anti-tireoglobulina tale valore è inferiore a 15 IU/ml.

PRECISIONE

La precisione è stata valutata sulla variabilità di intra-saggio ed inter-saggio, a differenti concentrazioni di analita.

Intra-saggio

Siero	Media	± (IU/ml)	D.S.	C.V. %	N
A	72,6	±	6,0	8,3	20
B	345,7	±	24,7	7,1	20
C	889,9	±	51,0	5,7	20

Inter-saggio

Siero	Media	± (IU/ml)	D.S.	C.V. %	N
A	90,3	±	8,4	9,3	9
B	390,0	±	49,8	12,8	9
C	985,4	±	104,9	10,6	9

ACCURATEZZA

L'accuratezza del metodo è stata verificata mediante il test di recupero ed il test 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	-	50,4	-
S1 + CAL 0	25,2	32,0	127,0
S1 + CAL 1	35,2	39,1	111,1
S1 + CAL 2	55,2	59,6	108,0
S1 + CAL 3	125,2	111,8	89,3
S1 + CAL 4	525,2	392,4	74,7
S1 + CAL 5	1025,2	1251,1	122,0

	Atteso (IU/ml)	Misurato (IU/ml)	Recupero (%)
S2	-	102,9	-
S2 + CAL 0	51,5	63,9	124,1
S2 + CAL 1	61,5	64,2	104,4
S2 + CAL 2	81,5	84,7	103,9
S2 + CAL 3	151,5	133,0	87,8
S2 + CAL 4	551,5	367,2	66,6
S2 + CAL 5	1051,5	1261,3	120,0

Test di Parallelismo

Un siero ad elevata concentrazione di analita è stato testato a varie diluizioni con il Calibratore Zero.

Diluizione	Atteso (IU/ml)	Misurato (IU/ml)	Recupero (%)
S1 sin diluir	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

NB. Data la eterogeneità degli autoanticorpi, per alcuni campioni di pazienti è possibile effettuare una diluizione non lineare.

È possibile scaricare questo foglietto illustrativo al seguente indirizzo www.zentech.be

NEDERLANDS

RADIO-IMMUNOASSAY VOOR DE KWANTITATIEVE BEPALING VAN DE AUTOANTILICHAMEN VOOR ANTI-THYREOGLOBULINE IN HUMAAN SERUM R-CI-100 – 100 tests

UITSLUITEND VOOR DIAGNOSTISCH GEBRUIK IN VITRO

1. KLINISCHE TOEPASSINGEN

Bij vrouwen komt schildklier-auto-immuniteit 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 TMAb 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 concurreert het monoklonale anti-Tg antilichaam op een vaste fase met de anti-Tg autoantilichamen van het monster/de kalibrator voor de specifieke plaatsen van het met ¹²⁵Jood gelabelde Tg (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-Tg autoantilichaam van het monster.

De kalibratoren van RIAZENco TG Ab worden gekalibreerd tegenover het internationale referentiepreparaat MRC65/93 van TgAb.

3. GELEVERDE MATERIALEN

- De reagentia zijn voldoende voor 100 tests.
- Bewaar de kit en de reagentia bij 2–8 °C.
- De houdbaarheidsdatum van elk reagens staat op het etiket vermeld.

- Radioactieve tracer:** 1 flacon met 22 ml met radioactief jodium behandeld thyreoglobuline, gecodeerd met een rode kleur. Radioactieve inhoud: ± 137 kBq per flacon. Bewaarmiddel: NaN₃ (< 0,1%).
- Kalibratoren: Nulkalibrator:** 1 flacon met 4.2 ml. Bewaarmiddel: NaN₃ (< 0,1%). Klaar voor gebruik.
Kalibrator 1 tot 5: 5 flacons met 0,7 ml anti-Tg (humaan serum) met de volgende concentraties: 20, 60, 200, 1.000, 2.000 IE/ml. Bewaarmiddel: NaN₃ (< 0,1%).
- Controles:** 2 flacons met 0,7 ml anti-Tg (humaan serum). **Raadpleeg de waarde vermeld op het informatieblad van de kwaliteitscontrole voor de exacte waarde.** Bewaarmiddel: NaN₃ (< 0,1%). Klaar voor gebruik.
- Gecoate buisjes:** 100 buisjes, gecoat met muis-monoklonaal anti-Tg antilichamen. Niet-gebruikte buisjes moeten bij 2 – 8 °C en beschermd tegen vocht worden bewaard.
- Wasoplossing (50 x geconcentreerd):** 1 flacon met 20 ml TRIS-HCl-buffer met detergens. Bewaarmiddel: NaN₃ < 0,1%. 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.
- Aspiratiepomp of geautomatiseerd wasapparaat.
- Gamma scintillatieteller.
- Gedestilleerd water.
- Rondschildapparaat, instelbaar op 150 toeren per minuut.

5. WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAAT-REGELEN VOOR GEBRUIKERS

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

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

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

Dit radioactief materiaal mag enkel door artsen, klinische laboratoria of ziekenhuizen worden ontvangen, gekocht, gebruikt en enkel zij mogen het in hun bezit hebben en wel uitsluitend voor *in vitro* klinische of laboratoriumtests waarbij het materiaal niet inwendig of uitwendig wordt toegediend en waarbij het ook niet wordt gebruikt voor bestraling bij mensen of dieren. De ontvangst, de aankoop, het bezit, het gebruik en de overdracht ervan zijn onderworpen aan de voorschriften van elk afzonderlijk land.

Fysische eigenschappen van ¹²⁵I: zie achteraan bij de instructies.

- Veiligheidsvoorzorgsmaatregelen:** De volgende voorzorgsmaatregelen dienen in acht te worden genomen bij handelingen met radioactief materiaal:
 - Radioactieve materialen in een daartoe bestemde ruimte bewaren.
 - Niet eten, drinken, roken of cosmetica aanbrengen waar handelingen met radioactieve materialen worden uitgevoerd.
 - Niet met de mond pipetteren.
 - Handschoenen dragen wanneer er handelingen met radioactieve materialen worden uitgevoerd en daarna de handen zorgvuldig wassen.
 - Het werkgebied met wegwerpbare absorberend papier afdekken.
 - Alle gemorst materiaal onmiddellijk en zorgvuldig afvegen en de gecontamineerde materialen als radioactief afvalmateriaal afvoeren.
 - Vloeibaar radioactief afvalmateriaal in het sanitaire afvoersysteem afvoeren, indien de lokale voorschriften dit toelaten.

- Waarschuwing CHEMISCH RISICO natriumazide (NaN₃):** Sommige reagentia in deze kit bevatten natriumazide als bewaarmiddel. Voor alle dergelijke reagentia is de concentratie van natriumazide <0,09% w/w. Natriumazide kan met de loden en koperen afvoerbuizen reageren en explosieve metaalaziden vormen. Alle niet-radioactieve reagentia afvoeren door het afvoersysteem met grote hoeveelheden water te spoelen.

Risicozinnen

R21/22 Schadelijk bij aanraking met de huid en bij opname door de mond.

Veiligheidszinnen

S-26 Bij aanraking met de ogen onmiddellijk met overvloedig water afspoelen en deskundig medisch advies inwinnen.

S-28.1 Na aanraking met de huid onmiddellijk wassen met veel water.

S-46 In geval van inslikken onmiddellijk een arts raadplegen en verpakking of etiket tonen.

- Waarschuwing POTENTIEEL BIOLOGISCH GEVAARLIJK MATERIAAL:** Deze kit kan sommige reagentia bevatten die met humaan serum of plasma zijn gemaakt. Het gebruikte serum of plasma is aan de hand van een door de FDA goedgekeurde methode getest en blijkt niet-reactief te zijn voor HIV-1/2 antilichamen, HCV en HBsAg. Geen enkele methode kan echter volledige garantie bieden dat HIV-1/2, HCV, HBsAg of andere infectieuze stoffen afwezig zijn, waardoor deze reagentia op het bioveiligheidsniveau 2 moeten worden behandeld, zoals voor alle potentieel infectieuze humane serum- of bloedspecimens aanbevolen in de 3^{de} editie van de handleiding "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" van 1993 van Centers for Disease Control/National Institutes of Health.

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 ontdooien dient te worden vermeden.

7. ASSAYPROCEDURE

- Laat alle reagentia en monsters – vóór gebruik – op kamertemperatuur komen.
 - Meng de monsters – vóór gebruik – door ze om te keren.
 - Voor alle kalibratoren wordt een tweede meting aanbevolen.
- Bereid onbehandelde buisjes voor de totaaltellingen en gecoate buisjes voor de kalibratoren, de monsters en de controles.
 - Pipetteer **20 µl** van elke kalibrator, elk controleserum en elk monster in de betreffende buisjes.
 - Voeg aan alle buisjes **200 µl** radioactieve tracer toe.
 - Meng de buisjes met een vortex en incubeer gedurende **90 minuten** bij kamertemperatuur op een rondschildapparaat, ingesteld op 150 toeren per minuut.
 - Zuig de inhoud van elk buisje (met uitzondering van de buisjes voor de totaaltellingen) op.
 - Voeg **2 ml** van de verdunde 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.
 - 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-Tg-waarden (> 2.000 IE/ml) worden verwacht voor een monster van een patiënt dient het oorspronkelijke monster te worden verdund. De verdunning dient met behulp van een nulkalibrator te worden uitgevoerd. **Geen buffers hiervoor gebruiken.**

SCHEMA VAN DE ASSAY

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

- Meng en incubeer gedurende 90 min bij kamertemperatuur op een rondschildapparaat (150 toeren per minuut).
- Zuig op of giet over, en was: 1 x met 2 ml.
- Tel.

8. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

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

Bindingspercentage voor kalibratoren, controles en monsters =

$$\% \text{ binding} = \frac{B}{B_o} \% = \frac{\text{Kalibrator of monster cpm}}{B_o \text{ cpm}} \times 100$$

Teken de kalibratiecurve op lineair-logaritmisch millimeterpapier door het voor elke kalibrator verkregen B/Bo% (y-as) uit te zetten tegen de relatieve concentratie (x-as). Bereken voor elk monster het B/Bo% en lees de anti-Tg-concentratie in IE/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/B ₀ (%)	TG Ab-conc. (IE/ml)
Totale activiteit (T)	57953	-	-
Cal 0	28090	100	0
Cal 1	24340	86,6	20
Cal 2	16927	60,3	60
Cal 3	9706	34,5	200
Cal 4	4100	14,6	1000
Cal 5	2048	7,3	2000
CONTROL 1	10843	38,6	158,2
CONTROL 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

INTERNE KWALITEITSCONTROLE

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

9. REFERENTIEWAARDEN

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

Minder dan 30 IE/ml	Negatief voor autoantilichamen voor anti-thyreoglobuline.
Tussen 30 – 70 IE/ml	Grensgeval
Meer dan 70 IE/ml	Positief voor autoantilichamen voor anti-thyreoglobuline.

10. EIGENSCHAPPEN VAN DE ASSAY

SPECIFICITEIT

Er werden geen kruisreacties waargenomen met autoantilichamen voor anti-TPO, 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 nulkalibrator (gemiddelde waarde - 2 SD). Deze dosis bedraagt 6 IE/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-thyreoglobuline bedraagt de waarde minder dan 15 IE/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 ± (IE/ml)	SD	VC %	N
A	72,6 ±	6,0	8,3	20
B	345,7 ±	24,7	7,1	20
C	889,9 ±	51,0	5,7	20

Tussen tests

Serum	Gemiddelde ± (IE/ml)	SD	VC %	N
A	90,3 ±	8,4	9,3	9
B	390,0 ±	49,8	12,8	9
C	985,4 ±	104,9	10,6	9

NAUWKEURIGHEID

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

Recovery-test

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

	Verwacht (IE/ml)	Gemeten (IE/ml)	Recovery (%)
M1	-	50,4	-
M1 + KAL 0	25,2	32,0	127,0
M1 + KAL 1	35,2	39,1	111,1
M1 + KAL 2	55,2	59,6	108,0
M1 + KAL 3	125,2	111,8	89,3
M1 + KAL 4	525,2	392,4	74,7
M1 + KAL 5	1025,2	1251,1	122,0
M2	-	102,9	-
M2 + KAL 0	51,5	63,9	124,1
M2 + KAL 1	61,5	64,2	104,4
M2 + KAL 2	81,5	84,7	103,9
M2 + KAL 3	151,5	133,0	87,8
M2 + KAL 4	551,5	367,2	66,6
M2 + KAL 5	1051,5	1261,3	120,0

Parallellistest

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

Verdunning	Verwacht (IE/ml)	Gemeten (IE/ml)	Recovery (%)
M1 onverdund	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

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

Deze bijsluiter kan op www.zentech.be worden gedownload.

POLSKI

TEST RADIOIMMUNOMETRYCZNY DO ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA AUTOPRZECIWCIAŁ PRZECIW TYREOGLOBULINIE W LUDZKIEJ SUROWICY KRWI

R-CI-100 - 100 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 TM.

2. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Niniejsza metoda opiera się na kompetycyjnym teście radioimmunologicznym (RIA). Podczas inkubacji przeciwciała monoklonalne przeciw Tg w fazie stałej konkurują z kalibratorem-autoprzeciwciałami przeciw Tg o swoiste miejsca na Tg znakowanej ¹²⁵I (znacznik). Po pobraniu i odmyciu promieniotwórczość w próbkach jest mierzona w liczniku gamma. Stopień wiązania będzie odwrotnie proporcjonalny do stężenia autoprzeciwciał przeciw Tg w badanej próbce.

Kalibratory RIAZENco TG Ab są wykalibrowane względem międzynarodowego standardu odniesienia dla TgAb MRC65/93.

3. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE W ZESTAWIE

- Ilość odczynników wystarcza na 100 oznaczeń.
- Zestaw i odczynniki przechowywać w temperaturze 2-8°C.
- Data ważności każdego odczynnika podana jest na etykiecie.

- 1 - **Znacznik promieniotwórczy** : 1 fiolka zawierające 22 ml znakoanej ¹²⁵I tyreoglobuliny, oznaczonej kolorem czerwonym. Promieniotwórczość: ± 137 kBq/fiolkę. Środek konserwujący: NaN₃ (<0,1%).
- 2 - **Kalibratory: Kalibrator 0** : 1 fiolka o zawartości 4.2 ml. Gotowe do użycia. Środek konserwujący: NaN₃ (<0,1%).
Kalibratory 1-5: 5 fiolek o zawartości 0.7 ml przeciwciał przeciw Tg (ludzka surowica), w następujących stężeniach: 20, 60, 200, 1000, 2000 IU/ml. Środek konserwujący: NaN₃ (<0,1%).
- 3 - **Kontrola**: 2 fiolek o zawartości 0,7 ml przeciwciał przeciw Tg (ludzka surowica). **Dokładną wartość należy uzyskać z karty charakterystyki kontroli jakości.** Środek konserwujący: NaN₃ (<0,1%).
- 4 - **Probówki z warstwą przeciwciał**: 100 probówek opłaszczonych mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciw Tg. Niewykorzystane probówki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, chronić przed wilgocią.
- 5 - **Roztwór odmywający (50-krotnie stężony)**: 1 fiolka z 20 ml bufora Tris-HCl z detergentem i konserwantem NaN₃ (<0.1%). Uzupełnić do 1000 ml wodą destylowaną. Tak rozcieńczony roztwór odmywający jest stabilny przez 2 miesiące przy przechowywaniu w temperaturze 2-8°C.

4. MATERIAŁY KONIECZNE A NIEDOSTARCZONE W ZESTAWIE.

- Plastikowe probówki
- Stojaki do probówek.
- Automatyczne mikropipety z jednorazowymi końcówkami.
- Wytrząsarka typu Vortex.
- Menzurka.
- Myjka lub urządzenie do mycia probówek.
- Licznik scyntylicyjny gamma.
- Woda destylowana.
- Mieszadło z regulacją - 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.

Ten materiał może być przyjmowany, nabywany, posiadany i wykorzystywany wyłącznie przez lekarzy i personel w laboratoriach klinicznych i szpitalnych, wyłącznie do badań klinicznych i laboratoryjnych metodami *in vitro*, które nie polegają na zewnętrznym lub wewnętrznym zastosowaniu tego materiału, ani promieniowania od niego pochodzącego u osobników ludzkich lub zwierząt. Przyjmowanie, nabywanie, posiadanie, wykorzystywanie oraz transport tego materiału podlega przepisom kraju stosowania.

Charakterystyka fizyczna ¹²⁵I: szczegóły na końcu instrukcji

1. **Środki ostrożności:** W trakcie posługiwania się materiałem radioaktywnym należy przestrzegać następujących środków ostrożności:
 - o Przechowywać materiały radioaktywne w obszarach odpowiednio oznaczonych.
 - o Nie wolno jeść, pić, palić tytoniu lub stosować kosmetyków w miejscach posługiwania się materiałami radioaktywnymi.
 - o Nie pipetować ustami.
 - o W trakcie posługiwania się materiałami radioaktywnymi należy zakładać rękawiczki. Po zakończeniu czynności należy dokładnie umyć ręce.
 - o Pokryć powierzchnię roboczą jednorazowym papierem absorpcyjnym.
 - o W razie zaplamienia natychmiast dokładnie wytrzeć wszelkie plamy. Wszelkie zanieczyszczone materiały należy utylizować w sposób odpowiedni dla odpadów radioaktywnych.
 - o Jeżeli jest to dopuszczalne przez miejscowe przepisy, za pośrednictwem systemu kanalizacyjnego można utylizować płynne materiały radioaktywne.
2. **Uwaga: ZAGROŻENIE CHEMICZNE - azydek sodowy (NaN₃):** Niektóre z odczynników w zestawie zawierają azydek sodowy, który pełni rolę środka konserwującego. W przypadku takich odczynników stężenie azydku sodowego wynosi < 0,09%. Azydek sodowy może reagować z rurami ołowianymi i miedzianymi, tworząc potencjalnie wybuchowe azydki metali. Wszystkie nieradioaktywne odczynniki należy utylizować wylewając je do kanalizacji i splukując dużą ilością wody.
Informacje dotyczące ryzyka
R 21/22 Szkodliwy w kontakcie ze skórą oraz w razie połknięcia.
Informacje dotyczące bezpieczeństwa
S-26 W przypadku kontaktu związku z oczami, należy natychmiast spłukać dużą ilością wody i zgłosić się po pomoc lekarską.
S-28.1 W razie kontaktu ze skórą, skażone miejsce należy obficie przemyć wodą.
S-46 W przypadku połknięcia produktu, należy natychmiast udać się po pomoc lekarską, pokazując opakowanie lub etykietę.

3. **Uwaga: MATERIAŁ POTENCJALNIE SKAŻONY BIOLOGICZNIE:** W zestawie mogą znajdować się niektóre odczynniki, wykonane z surowicy lub osocza pochodzenia ludzkiego. Wykorzystywane surowice lub osocze zostały przebadane metodami dopuszczonymi przez FDA, na obecność przeciwciał HIV1/2, wirusa HCV i HbsAg. Wyniki tych badań były ujemne. Ponieważ żadna metoda nie jest w stanie całkowicie zagwarantować, że HIV1/2, HCV, HbsAg lub inne czynniki zakaźne nie występują w badanym materiale, takie odczynniki powinny być traktowane zgodnie z zasadami bezpieczeństwa biologicznego (poziom 2), według zaleceń podręcznika "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Bezpieczeństwo biologiczne w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych) Centers for Disease Control/National Institutes of Health (Centrum Kontroli Chorób/Narodowy Instytut Zdrowia) wydanie trzecie, 1993, dotyczących wszelkich próbek surowicy lub krwi pochodzenia ludzkiego.

6. POBIERANIE PRÓBEK

Zaleca się stosowanie surowicy krwi. Próbkę z lipemią albo hemolizą należy odrzucić. Próbkę 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

- Doprowadzić wszystkie odczynniki i próbki do temperatury pokojowej.
- Przed użyciem zmieszać próbki przez delikatne wstrząsanie.
- Dla wszystkich kalibratorów zaleca się dwukrotne wykonanie pomiaru.

1. Przygotować zwykle próbówki do zliczeń całkowitych oraz próbówki z warstwą przeciwciał do kalibratorów, próbek badanych i kontroli
2. Pobrać pipetą **20 µl** każdego kalibratora, surowicy kontrolnej lub próbki badanej do odpowiednich próbek.
3. Dodać po **200 µl** znacznika radioaktywnego do wszystkich próbek.
4. Inkubować przez **90 minut** w temperaturze pokojowej, wytrząsając na mieszadle orbitalnym przy 150 obrotach na minutę.
5. Pobrać zawartość każdej próbówki, za wyjątkiem próbek do zliczeń całkowitych.
6. Dodać po **2 ml** rozcieńczonego roztworu do odmywania do każdej próbówki, za wyjątkiem próbek do zliczeń całkowitych i dokładnie usunąć albo zlać zawartość wszystkich próbek na papier chłonny.
7. Zliczyć radioaktywność dla poszczególnych próbek przez 1 minutę w liczniku gamma. Doradza się sprawdzić poziom tła instrumentu przed zliczaniem testu. Aby uniknąć zmienności czułości systemu, tło należy zredukować do minimum albo brać pod uwagę w obliczeniach.

Uwaga

Jeśli w badanej próbce oczekiwane są wysokie wartości przeciwciał przeciw Tg (powyżej 2000 IU/ml), próbkę należy rozcieńczyć. Do rozcieńczenia używać kalibratora zero.

Nie używać żadnego innego bufora do tego celu.

SCHEMAT TESTU

Próbówki	Aktywność całkowita	Kalibratory	Próby kontrolne	Próbki
Odczynnik				
Kalibratory	----	20 µl	----	----
kontrole	----	----	20 µl	----
Próbki	----	----	----	20 µl
Znacznik	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
- Inkubować przez 90 minut w temp. pokojowej, wytrząsając (150 obrotów na minutę)				
- Pobrać i przemyć: 1 x 2 ml				
- Wykonać zliczenie				

8. OBLICZENIE WYNIKÓW

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

Procent wiązania dla kalibratorów, prób kontrolnych i próbek badanych =

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

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 przeciwciał przeciw TgAb w IU/ml przez interpolację na krzywej kalibracyjnej.

PRZYKŁAD OBLICZENIA

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

Opis	Średnia ilość zliczeń	B/B ₀ (%)	Stęż. TG Ab (IU/ml)
Aktywność całkowita (T)	57953	-	-
Cal 0	28090	100	0
Cal 1	24340	86,6	20
Cal 2	16927	60,3	60
Cal 3	9706	34,5	200
Cal 4	4100	14,6	1000
Cal 5	2048	7,3	2000
Kontrola 1	10843	38,6	158,2
Kontrola 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.

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

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

9. WARTOŚCI REFERENCYJNE

Zaleca się aby każde laboratorium określiło własny przedział referencyjny. Wartości podane poniżej są wyłącznie orientacyjne.

Poniżej 30 IU/ml:	Ujemny dla autoprzeciwciał przeciw tyreoglobulinie.
Pomiędzy 30–70 IU/ml	Linia graniczna
Powyżej 70 IU/ml:	Dodatni dla autoprzeciwciał przeciw tyreoglobulinie.

10. CHARAKTERYSTYKA TESTU

SWOISTOŚĆ

Nie zaobserwowano reakcji krzyżowych z autoprzeciwciałami przeciw TPO 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 6 IU/ml.

Czułość funkcjonalna

Czułość funkcjonalna testu to najniższy poziom który jest mierzony z 20% precyzją zmienności wewnątrztestowej. Dla autoprzeciwciał przeciw tyreoglobulinie wartość ta jest niższa od 15 IU/ml.

PRECYZJA

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

Wewnątrztestowa

Surowica	Średnia	±	S.D.	C.V. (%)	N
	(IU/ml)				
1	72,6	±	6,0	8,3	20
2	345,7	±	24,7	7,1	20
3	889,9	±	51,0	5,7	20

Międzytestowa

Surowica	Średnia	±	S.D.	C.V.	N
	(IU/ml)			(%)	
1	90,3	±	8,4	9,3	9
2	390,0	±	49,8	12,8	9
3	985,4	±	104,9	10,6	9

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność metody została sprawdzona przy pomocy testu odzyskania i równoległości.

Test Odzyskania:

Testowano próbki zmieszane z równymi objętościami każdego punktu kalibracyjnego.

	OCZEKIWANA	MIERZONA	ODZYSKANIA
	(IU/ml)	(IU/ml)	(%)
S1	-	50,4	-
S1 + CAL 0	25,2	32,0	127,0
S1 + CAL 1	35,2	39,1	111,1
S1 + CAL 2	55,2	59,6	108,0
S1 + CAL 3	125,2	111,8	89,3
S1 + CAL 4	525,2	392,4	74,7
S1 + CAL 5	1025,2	1251,1	122,0
S2	-	102,9	-
S2 + CAL 0	51,5	63,9	124,1
S2 + CAL 1	61,5	64,2	104,4
S2 + CAL 2	81,5	84,7	103,9
S2 + CAL 3	151,5	133,0	87,8
S2 + CAL 4	551,5	367,2	66,6
S2 + CAL 5	1051,5	1261,3	120,0

Test równoległości:

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

ROZCIEŃCZENIE	OCZEKIWANA	MIERZONA	ODZYSKANIA
	(IU/ml)	(IU/ml)	(%)
S1 nierozcieńczona	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

Uwaga. Z powodu niehomogenności autoprzeciwiał w niektórych próbkach od pacjentów możliwe jest rozcieńczenie nieliniowe.

Niniejszą instrukcję można pobrać ze strony www.zentech.be

PORTUGES

RADIOIMUNOENSAIO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE AUTOANTICORPOS ANTI-TIROGLOBULINA EM SORO HUMANO.

R-CI-100 - 100 Determinações

SOMENTE PARA USO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. APLICAÇÕES CLÍNICAS

A doença tireoidiana 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 TMAb.

2. PRINCÍPIO DO ENSAIO

O presente método é baseado em um radioimunoensaio competitivo (RIA). Durante a incubação, os anticorpos monoclonais anti-TG na fase sólida competem com os auto anticorpos anti-TG das amostras e calibradores por sítios específicos de TG marcado com ¹²⁵I. 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-TG da amostra. Os calibradores de RIAZENco TG Ab são calibrados de acordo com a preparação de referência internacional de TGAb, MRC65/93.

3. MATERIAL FORNECIDO

- Os reagentes são suficientes para 100 determinações.
- Armazene o kit e os reagentes entre 2-8°C.
- A data de validade de cada reagente é mostrada na etiqueta.

- 1. Marcador Radioativo:** 1 frasco contendo 22 ml de Tiroglobulina iodinada codificada pela cor vermelha. Índice de radioatividade: ± 137 kBq por frasco. Preservativo: NaN3 (< 0,1%).
- 2. Calibradores:**
Calibrador Zero: 1 frasco contendo 4.2 ml. Pronto para uso. Preservativo: NaN3 (< 0,1%).
Calibradores 1 a 5: 5 frascos contendo 0,7 ml do anti-TG (soro humano), nas seguintes concentrações: 20, 60, 300, 1000 e 3000 UI/ml . Preservativo: NaN3 (< 0,1%).
- 3. Controles:** 2 frascos contendo 0,7 ml do anti-TG (soro humano). Para o valor exato, consulte ao valor escrito na folha de dados do controle da qualidade. Preservativo: NaN3 (< 0,1%).
- 4. Tubos Adsorvidos:** 100 tubos adsorvidos com os anticorpos monoclonais anti-TG produzidos em camundongo. Os tubos não utilizados devem ser armazenados entre 2-8°C, protegidos da umidade.
- 5. Solução de lavagem (50 x concentrada):** 1 frasco de 20 ml de tampão TRIS-HCl com detergente. Preservativo: NaN3 <0,1%. 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 ponteiros 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.

Este material radioactivo só pode ser encomendado, adquirido, possuído e utilizado por pessoal médico, laboratórios de análises ou hospitais e apenas para um uso clínico ou laboratorial *in vitro* que não envolva uma administração interna ou externa do material, ou da radiação resultante, em seres humanos ou animais. A sua recepção, aquisição, posse, utilização e transferência estão sujeitas às regulamentações de cada país.

Características físicas ¹²⁵I: veja o fim da instrução

- Precauções de segurança:** Precauções a adoptar aquando do manuseamento de material radioactivo:
 - o Conserve o material radioactivo num local próprio.
 - o Não coma, beba, fume ou aplique cosméticos nas áreas destinadas à utilização de materiais radioactivos.
 - o Não efectue a pipetagem com a boca.
 - o Utilize luvas durante o manuseamento de materiais radioactivos e lave cuidadosamente as mãos após a sua utilização.
 - o Cubra a área de trabalho com papel absorvente descartável.
 - o Limpe imediata e cuidadosamente quaisquer substâncias derramadas e elimine os materiais contaminados como se se tratasse de resíduos radioactivos.
 - o Deite os resíduos líquidos de materiais radioactivos no sistema de canalização, se tal for permitido pelas regulamentações locais.

- RISCO QUÍMICO - Azida de sódio (NaN₃):** Alguns dos reagentes deste kit contêm azida de sódio como conservante. Para todos esses reagentes, a concentração de azida de sódio é <0,09% p/p. A azida de sódio pode reagir com o cobre ou chumbo das canalizações e formar uma azida metálica explosiva. Elimine todos os reagentes não radioactivos despejando grandes quantidades de água nas canalizações.

Frases de Perigo

R-21/22 Não deve entrar em contacto com a pele ou ser ingerido

Frases de Segurança

S-26 Em caso de contacto com os olhos, passar imediatamente por água abundante e consultar um médico.

S-28,1 Após contacto com os olhos, passar imediatamente por muita água.

S-46 Se for ingerido, consultar imediatamente um médico e mostrar-lhe a etiqueta da embalagem.

- Advertência de RISCO BIOLÓGICO:** Este kit pode conter alguns reagentes preparados com soro ou plasma humano. O soro ou plasma utilizados foram testados com um método aprovado pela FDA e dados como negativos no que concerne à presença de anticorpos HIV-1/2, HCV e HBsAg. Dado que nenhuma metodologia pode assegurar por completo a ausência de HIV-1/2, HCV, HBsAg ou de outros agentes infecciosos, estes reagentes devem ser manuseados com as mesmas precauções habitualmente requeridas para quaisquer amostras de soros ou sangue humano potencialmente infecciosas, de acordo com o Nível de Biossegurança 2 e segundo as disposições do manual sanitário do Centro de Controlo de Doenças/Institutos Nacionais de Saúde dos EUA "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia," 3ª Edição, 1993.

6. 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.

7. PROCEDIMENTO DO ENSAIO

- Coloque todos os reagentes e amostras à temperatura ambiente antes do uso.

- Antes do uso, misture as amostras por inversão.
- Para todos os calibradores, uma medida em duplicata é recomendado.

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 radioactivo em todos os tubos.
4. Incube por **90 minutos a temperatura ambiente** em um agitador orbital ajustado em 150 rpm.
5. Aspire o conteúdo de cada tubo, exceto dos 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-TG (> 2000 U/ml) são esperados para amostras de paciente, a amostra original deve ser diluída. Esta diluição deve ser feita usando o calibrador zero. Não use nenhuns outro tampão para esta finalidade.

ESQUEMA DO ENSAIO

Tubos	Atividade Total	Calibradores	Controle	Amostras
Reagentes				
Calibradores	----	20 µl	----	----
Controle	----	----	20 µl	----
Amostras	----	----	----	20 µl
Marcador	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Incubar 90 min T.A. sob agitação (150 rpm)
- Aspirar e lavar: 1 x 2 ml
- Contar

8. 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/B₀ (%) obtido para cada calibrador (eixo y) contra a concentração relativa (eixo x). Calcule o B/B₀ (%) de cada amostra e leia a concentração de anti-Tg em UI/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 ₀ (%)	TG Ab conc. (U/ml)
Atividade Total (T)	57953	-	-
CAL 0	28090	100	0
CAL 1	24340	86,6	20
CAL 2	16927	60,3	60
CAL 3	9706	34,5	200
CAL 4	4100	14,6	1000
CAL 5	2048	7,3	2000
CONTROLE 1	10843	38,6	158,2
CONTROLE 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

CONTROLO INTERNO DE QUALIDADE

- Se os resultados obtidos para o Controlo 1 e/ou 2 não se situarem dentro do intervalo especificado no rótulo do recipiente, os resultados não podem ser utilizados sem haver uma explicação satisfatória para a discrepância verificada.

- Se tal for desejável, cada laboratório pode fazer os seus pools de amostras de controlo, que devem ser mantidas na forma de alíquotas congeladas. Não efectue mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento.

- Os critérios de aceitação da diferença entre os resultados duplos das amostras devem basear-se nas Boas Práticas Laboratório.

9. VALORES DE REFERÊNCIA

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

Menor que 30 U/ml:	Negativo para anti-Tiroglobulina auto-anticorpos.
Entre 30–70 U/ml	Limite
Maior que 70 U/ml:	Positivo para anti-Tiroglobulina auto-anticorpos.

10. DESEMPENHO DO ENSAIO

ESPECIFICIDADE

Não foram observadas reações cruzadas com autoanticorpos anti-TPO 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 6 UI/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 os autoanticorpos anti-Tiroglobulinas, este valor é menor que 15 UI/ml.

PRECISÃO

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

No ensaio

Soro	Média	± (U/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	72,6	±	6,0	8,3	20
2	345,7	±	24,7	7,1	20
3	889,9	±	51,0	5,7	20

Entre Ensaios

Soro	Média	± (U/ml)	S.D.	C.V. (%)	N
1	90,3	±	8,4	9,3	9
2	390,0	±	49,8	12,8	9
3	985,4	±	104,9	10,6	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	-	50,4	-
A1 + CAL 0	25,2	32,0	127,0
A1 + CAL 1	35,2	39,1	111,1
A1 + CAL 2	55,2	59,6	108,0
A1 + CAL 3	125,2	111,8	89,3
A1 + CAL 4	525,2	392,4	74,7
A1 + CAL 5	1025,2	1251,1	122,0
A2	-	102,9	-
A2 + CAL 0	51,5	63,9	124,1
A2 + CAL 1	61,5	64,2	104,4
A2 + CAL 2	81,5	84,7	103,9
A2 + CAL 3	151,5	133,0	87,8
A2 + CAL 4	551,5	367,2	66,6
A2 + CAL 5	1051,5	1261,3	120,0

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	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

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

Esta bula está disponível para download no site www.zentech.be

БЪЛГАРСКИ

РАДИОИМУННО ИЗСЛЕДВАНЕ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗМЕРВАНЕ НА АВТОАНТИТЕЛА НА АНТИ-ТИРЕОГЛОБУЛИН В ЧОВЕШКИ СЕРУМ

R-CI-100 - 100 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 TMAb.

2. ПРИНЦИП НА ИЗСЛЕДВАНЕ

Използваният понастоящем метод се базира на конкурентното радиоимунно изследване (RIA). По време на инкубацията моноклоналното анти-Tg антитяло в твърда фаза се конкурира с анти-Tg автоантителата в пробата/ калибратора за специфични центрове на натоварен с ¹²⁵I тиреоглобулин (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 TG Ab са калибрани, съгласно международните препоръки за приготвяне на TgAb MRC65/93.

3. ВКЛЮЧЕНИ В КИТА РЕАГЕНТИ

- Реагентите са предвидени за 100 измервания.
- Съхранявайте кита и реагентите при температури 2-8°C.
- Срокът на годност на всеки реагент е указан на етикета.

- 1- Радиоактивен трейсър:** 1 флакон, съдържащ 22 ml натоварен с йод тиреоглобулин, оцветен в червено. Радио-активност: ± 137 kBq на флакон. Консервант: NaN₃ (<0.1%).
- 2- Калибратори: Нулев калибратор:** 1 флакон, съдържащ 4.2 ml. Консервант: NaN₃ (<0.1%). Готов за употреба.
Калибратори 1 до 5: 5 флакона, съдържащи 0.7 ml анти-Tg (човешки серум) в следните концентрации: 20, 60, 200, 1000, 2000 IU/ml. Консервант: NaN₃ (<0.1%).
- 3- Контроли:** 2 флакона, съдържащи 0.7 ml анти-Tg (човешки серум). **За точната стойност вижте Информационния лист за контрол на качеството.** Консервант: NaN₃ (<0.1%).
- 4- Покрити епруветки:** 100 епруветки, покрити с миши моноклонални анти-Tg антитела. Неизползваните епруветки трябва да се съхраняват при 2-8°C, защитени от влага.
- 5- Измиващ разтвор (50 x концентриран):** 1 флакон 20 ml трис-буфер с HCl, детергент и консервант NaN₃ (<0.1%). Разреждете го до 1000 ml с дестилирана вода. Разределеният измиващ разтвор е стабилен в продължение на 2 месеца при 2-8°C.

4. НЕОБХОДИМ МАТЕРИАЛ, НЕВКЛЮЧЕН В КИТА

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

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ ЗА ПОТРЕБИТЕЛЯ

Само за *in vitro* диагностика.

Този тест може да се използва само от квалифициран лабораторен персонал, като боравенето с него трябва да бъде в съответствие с изискванията на Добрата лабораторна практика.

Радиоактивен материал - не е предназначен за вътрешна или външна употреба при хора и животни.

Този радиоактивен материал може да бъде получен, придобит, притежаван и използван само от доктори, клинични лаборатории или болници и само за *in vitro* клинични или лабораторни тестове, изключващи вътрешно или външно прилагане на материала или радиацията в него на хора или животни. Неговото получаване, придобиване, притежаване, употреба и прехвърляне трябва да се извършва съгласно законодателството и стандартите в държавата. Физични характеристики на ¹²⁵I: вижте в края на инструкциите.

- 1. Предпазни мерки:** При боравенето с радиоактивен материал спазвайте стриктно следните инструкции:
 - o Съхранявайте радиоактивните материали в предназначената за целта зона.
 - o Не яжте, не пийте, не пушете и не използвайте козметични средства в близост до места, в които се оперира с радиоактивен материал.
 - o Не пипетирайте с уста.
 - o Носете ръкавици, когато боравите с радиоактивен материал, и измивайте ръцете си с голямо количество вода.
 - o Покрийте работната зона с абсорбираща хартия за еднократна употреба.
 - o Избърсвайте разлетия материал незабавно и напълно и изхвърляйте контаминирани материали като радиоактивен отпадък.
 - o Изхвърляйте течния радиоактивен отпадък в санитарната канализация само ако това е позволено от местните разпоредби.
- 2. ОПАСНИ ХИМИКАЛИ, предупреждение за наличието на натриев азид (NaN₃):** Някои от реагентите в този кит съдържат натриев азид като консервант. При тези реагенти неговата концентрация е <0.09% w/w. Натриевият азид може да реагира с оловните и медни канализационни тръби и да образува експлозивни метални азиди. Изхвърляйте всички нерадиоактивни реагенти, като след това промиете канализационната система с големи количества вода.
Рискови фрази
R 21/22 Вредно при контакт с кожата и при поглъщане.
Защитни фрази
S-26 В случай на контакт с очите промийте незабавно с обилно количество вода и потърсете лекарска помощ.
S-28.1 След контакт с кожата промийте незабавно с обилно количество вода.
S-46 При поглъщане потърсете незабавно лекарска помощ и покажете контейнера или етикета.
- 3. ПОТЕНЦИАЛНО БИОЛОГИЧНО ОПАСЕН МАТЕРИАЛ:** Този кит може да съдържа реагенти, съдържащи човешки серум или плазма. Използваните серум или плазма са били тествани по одобрен от FDA (Американската агенция за храните и лекарствата) метод и е било установено, че не съдържат антитела за HIV-1/2, HCV и HBsAg. Тъй като никой метод не може да гарантира пълна сигурност, че липсват HIV-1/2, HCV, HBsAg или други инфекциозни агенти, с тези реагенти трябва да се борави на Ниво 2 за биологична защита, както се препоръчва и за всички потенциално заразни човешки серумни или кръвни проби в Наръчника за здравеопазване на Центровете за контрол на заболяванията/ на Националните институти "Биологична защита в микробиологичните и биомедицинските лаборатории," 3-то издание, 1993 година.

6. ВЗИМАНЕ НА ПРОБИТЕ

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

7. ПРОЦЕДУРА ПО ИЗСЛЕДВАНЕТО

- Преди употреба приведете всички проби и калибратори до стайна температура.
- Преди употреба смесете пробите чрез обръщане.
- При всички калибратори е препоръчително двойно измерване.

1. Пригответе обикновени епруветки за общото преброяване и покрити епруветки за калибраторите, пробите и контролите.
2. Накапете с пипета **20 µl** от всеки калибратор, контролните серуми и пробите в съответните епруветки.
3. Добавете **200 µl** радиоактивен трейсър във всички епруветки.
4. Разбъркайте епруветките в завихрящо устройство и ги инкубирайте за **90 минути** на стайна температура върху орбитално клатещо устройство, настроено на 150 об. в минута.
5. Аспирирайте съдържанието на всяка епруветка, с изключение на тези, предназначени за общото преброяване.
6. Добавете **2 ml** разреден измиваш разтвор към всички епруветки, освен тези за общото преброяване, и аспирирайте или прелейте съдържанието им върху абсорбираща хартия.
7. Измерете радиоактивността, свързана към епруветките (време на броене: 1 минута) посредством гама брояч. Преди да извършите измерванията е препоръчително да регулирате фона 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-Tg (> 2000 IU/ml) при даден пациент, разрежете оригиналната проба. Разреждането извършете с нулев калибратор. **За целта не използвайте буфери.**

СХЕМА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Епруветки	Обща радиоактивност	Калибратори	Контроли	Проби
Реагент				
Калибратори	----	20 µl	----	----
Контролни серуми	----	----	20 µl	----
Проби	----	----	----	20 µl
Трейсър	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

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

8. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

$$\text{Свързана радиоактивност} = \frac{B_0}{T} \% = \frac{B_0 \text{ Срм}}{T \text{ Срм}} \times 100$$

Процент на свързване при калибраторите, контролите и пробите =

$$\text{Свързване \%} = \frac{B}{B_0} \% = \frac{\text{Пребр.в мин. на калибратор или проба}}{\text{Преброявания в минута на } B_0} \times 100$$

Начертайте калибрационната крива върху семи-логаритмична или logit-log графична хартия, като нанесете B/B₀%, получено за всеки калибратор (по оста y), и относителната концентрация (по оста x). Изчислете B/B₀% на всяка проба и отчетете концентрацията на анти-Tg в IU/ml, чрез интерполация 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 преброявания в минута	B/B ₀ (%)	Концентрация на TG Ab (IU/ml)
Обща радиоактивност (T)	57953	-	-
Калибратор 0	28090	100	0
Калибратор 1	24340	86,6	20
Калибратор 2	16927	60,3	60
Калибратор 3	9706	34,5	200
Калибратор 4	4100	14,6	1000
Калибратор 5	2048	7,3	2000
КОНТРОЛА 1	10843	38,6	158,2
КОНТРОЛА 2	5757	20,5	604,7
P1	13998	49,8	91,5
P2	6634	23,6	464,8
P3	4270	15,2	942,9

ВЪТРЕШЕН КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2, не са в интервала на специфицираните на етикета на флакона 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 проби, които да съхранява замразени в аликвоти.
- Критериите за приемане на разликата между резултатите от изследването на две еднакви проби 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 30 IU/ml	Отрицателен за наличието на автоантитела на анти-тиреоглобулин.
Между 30 - 70 IU/ml	Гранична линия.
Над 70 IU/ml	Положителен за наличието на автоантитела на анти-тиреоглобулин.

10. ПРОВЕЖДАНЕ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

СПЕЦИФИЧНОСТ

Не бяха наблюдавани кръстосани реакции с анти-ТРО автоанти-тела, 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 6 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 авто-антителата на анти-тиреоглобулина тази стойност е под 15 IU/ml.

ПРЕЦИЗНОСТ

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

В рамките на теста

Серум	Средно	±	Стандартно отклонение (IU/ml)	Коефициент на вариация %	Брой
A	72,6	±	6,0	8,3	20
B	345,7	±	24,7	7,1	20
C	889,9	±	51,0	5,7	20

Между тестовите

Серум	Средно	±	Стандартно отклонение (IU/ml)	Коефициент на вариация %	Брой
A	90,3	±	8,4	9,3	9
B	390,0	±	49,8	12,8	9
C	985,4	±	104,9	10,6	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	-	50,4	-
S1 + КАЛ. 0	25,2	32,0	127,0
S1 + КАЛ. 1	35,2	39,1	111,1
S1 + КАЛ. 2	55,2	59,6	108,0
S1 + КАЛ. 3	125,2	111,8	89,3
S1 + КАЛ. 4	525,2	392,4	74,7
S1 + КАЛ. 5	1025,2	1251,1	122,0
S2	-	102,9	-
S2 + КАЛ. 0	51,5	63,9	124,1
S2 + КАЛ. 1	61,5	64,2	104,4
S2 + КАЛ. 2	81,5	84,7	103,9
S2 + КАЛ. 3	151,5	133,0	87,8
S2 + КАЛ. 4	551,5	367,2	66,6
S2 + КАЛ. 5	1051,5	1261,3	120,0

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	-	1109	-
1/2	554,5	586,7	105,8
1/4	277,3	275,0	99,2
1/8	138,6	143,0	103,2
1/16	69,3	82,0	118,3

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

Това приложение към пакета можете да запишете от сайта www.zentech.be.

**11.BIBLIOGRAPHIE–BIBLIOGRAPHY–
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ–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 an 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 ultrasound 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 ¹²⁵I
Physical characteristics of ¹²⁵I
Caracteristicas fisicas ¹²⁵I
φυσικά χαρακτηριστικά του ¹²⁵I
Caractéristiques physique de ¹²⁵I
Caratteristica fisica¹²⁵I
Fysieke kenmerken van ¹²⁵I
Charakterystyka fizyczna I-¹²⁵
Características físicas ¹²⁵I
Физични характеристики на ¹²⁵I

t_{1/2} = 59.9 Tagen, days, dias, ημέρες, jours, giorni, dagen, dni, días,
дена
Wichtigste Emissionnen
Main emissions
Emissionnes principales
κύριες εκπομπές
Emissions principales
Emissione principale
Hoofduitzendingen
Głowne rodzaje promieniowania
Emissões principais
Основнилъчения

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

