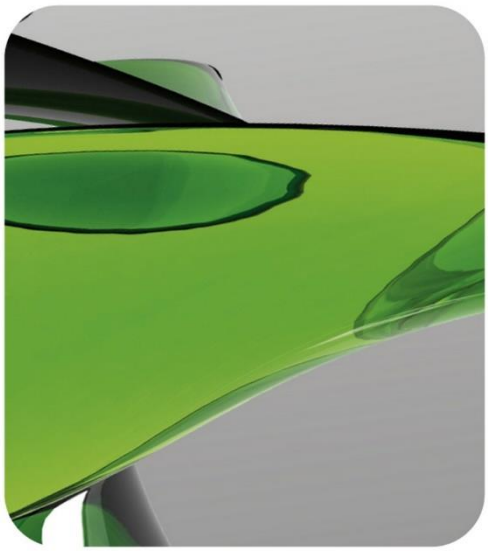
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® Tg

Ref 3402

Οδηγίες χρήσης

Περιεχόμενα

1 Ενδεδειγμένη χρήση 1
2 Κλινική εφαρμογή και αρχές της μεθόδου 1
3 Συστατικά στοιχεία που περιέχονται στο σετ 2
4 Φύλαξη και χρόνος διατήρησης 2
5 Υποδείξεις και προφυλάξεις 3
6 Λήψη δείγματος, προετοιμασία και φύλαξη 4
7 Διαδικασία της μεθόδου 4
8 Ποσοτική και ποιοτική ερμηνεία 7
9 Τεχνικά στοιχεία 9
10 Στοιχεία Απόδοσης 9
11 Βιβλιογραφία 10
12 Ρυθμιστικά σύμβολα 11

Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Tel: +49 6734 9622-0
Fax: +49 6734 9622-2222 Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

1 Ενδεδειγμένη χρήση

***AESKULISA®* Tg** είναι μία έμμεση Ενζυμοανοσολογική μέθοδος στερεής φάσης για τον ποσοτικό προσδιορισμό της θυρεοσφαιρίνης (Tg) στον ανθρώπινο ορό. Η στερεή φάση είναι επικαλυμμένη με μονοκλωνικά αντισώματα, τα οποία τάσσονται ενάντια στην ανθρώπινη θυρεοσφαιρίνη.
Η δοκιμασία εξυπηρετεί στη διάγνωση και παρακολούθηση καρκινωμάτων του θυρεοειδούς, όπως επίσης και στη διαφοροδιάγνωση των ασθενειών του θυρεοειδούς.

2 Κλινική εφαρμογή και αρχές της μεθόδου

Η θυρεοσφαιρίνη (Tg) είναι μία γλυκοπρωτεΐνη 660 kDa, η οποία βρίσκεται στο κολλοειδές υγρό των κυστιδίων του θυρεοειδούς. Παίζει σημαντικό ρόλο στην αποθήκευση του ιωδίου και αποτελεί υπόστρωμα για τη σύνθεση των ιωδιωμένων θυρεοειδικών ορμονών: θυροξίνη (T4) και 3,5,3`-τριιωδοθυρονίνη (T3).
Αυξημένες συγκεντρώσεις της Tg στον ορό ανευρίσκονται σε διάφορες ασθένειες του θυρεοειδή, όπως είναι ο υπερθυρεοειδισμός, η μη τοξική βρογχοκήλη, η θυρεοειδίτιδα και τα διαφοροποιημένα καρκινώματα του θυρεοειδούς.
Η βασική ένδειξη για τον προσδιορισμό της Tg στον ορό είναι η μετεγχειρητική παρακολούθηση των διαφοροποιημένων καρκινωμάτων του θυρεοειδή. Εξυπηρετεί στην πρώιμη ανίχνευση ή στον αποκλεισμό μεταστάσεων, υποτροπών του όγκου και στην παρακολούθηση της περαιτέρω θεραπείας με ραδιενεργό ιώδιο. Ασθενείς, οι οποίοι έχουν υποστεί πλήρη θυρεοειδεκτομή και είναι ελεύθεροι μεταστάσεων και καρκινικών ιστών, δεν παρουσιάζουν αυξημένες συγκεντρώσεις Tg στον ορό τους, σε πλήρη ύφεση ακόμη και υπό διέγερση μέσω TSH δεν έχουν Tg. Η διαπίστωση Tg στον ορό αυτών των ασθενών υποδεικνύει αντιθέτως, την ύπαρξη ενός ακόμη υπάρχοντος ή νέο εξελισσόμενου νεοπλάσματος, ιδιαίτερα όταν η Tg διαπιστώνεται υπό την TSH-κατασταλτική θεραπεία με θυρεοειδικές ορμόνες (προφίλ Tg).
Σε αντίθεση με τα παραπάνω, ασθενείς με μυελοειδείς ή αδιαφοροποίητα καρκινώματα εμφανίζουν φυσιολογικές συγκεντρώσεις Tg . Εφόσον όμως μπορούν να παρουσιαστούν υψηλές συγκεντρώσεις Tg και σε άλλες καλοήθεις ασθένειες του θυρεοειδή, η δοκιμασία αυτή δεν εξυπηρετεί ως κριτήριο στο να τεθεί η διάγνωση κακοηθών όγκων του θυρεοειδούς.
Ο προσδιορισμός της Tg έχει προγνωστική αξία για την εξέλιξη της θεραπείας ασθενών που πάσχουν από τη νόσο του Graves. Σημαντικά αυξημένα επίπεδα Tg μετά από το πέρας μίας θυρεοστατικής θεραπείας συνηγορούν υπέρ ενός αυξημένου κινδύνου υποτροπής, ενώ ασθενείς με χαμηλές συγκεντρώσεις Tg τείνουν προς μία συνεχής ίαση.

Αρχές της δοκιμασίας
Τα αδιάλυτα δείγματα ορού επωάζονται στους υποδοχείς (κοιλότητες), οι οποίοι είναι επικαλυμμένοι με μονοκλονικά αντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης (Tg). Κατά τη διάρκεια της επώασης συνδέεται η Tg από τον ορό του ασθενή, εάν υπάρχει, με τα αντισώματα που βρίσκονται στην πλάκα, τα μη συνδεμένα στοιχεία του ορού απομακρύνονται στο επόμενο βήμα πλύσης. Έπειτα προσθέτονται μονοκλονικές αντι- Tg ανοσοσφαιρίνες, οι οποίες είναι σημαδεμένες με υπεροξειδάση από ραφανίδα (σύζευγμα). Κατά τη διάρκεια μίας επώασης, αυτές συνδέονται με το σύμπλοκο αντιγόνου – αντισώματος που δημιουργήθηκε πριν, μη συνδεμένες ανοσοσφαιρίνες απομακρύνονται στο επόμενο βήμα πλύσης. Η διαπίστωση των συνδεμένων αντισωμάτων πραγματοποιείται με ενζυματική χρωστική αντίδραση (μπλε) του υποστρώματος, η οποία αναστέλλεται με διαλυμένο οξύ (αλλαγή χρώσης σε κίτρινο). Ο βαθμός χρωματικής ανάπτυξης του χρωμογόνου εξαρτάται από την ποσότητα συζεύγματος που βρίσκεται συνδεδεμένη με το σύμπλοκο αντιγόνου – αντισώματος κι έτσι είναι ανάλογος με τη συγκέντρωση της Tg στον ορό.

3 Συστατικά στοιχεία που περιέχονται στο σετ

ΔΙΑΛΥΟΝΤΑΙ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ				
Στοιχείο	Ποσότητα	Χρώμα καπακιού	Χρώμα διαλύματος	Περιγραφή / Περιεχόμενο
Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων (5x)	1 x 20ml	Λευκό	Κίτρινο	5πλάσια συγκέντρωση Tris, χλωριούχο νάτριο (NaCl), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)
Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (50x)	1 X 20ml	Λευκό	Πράσινο	50πλάσια συγκέντρωση Tris, NaCl, Tween 20, οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)
ΕΤΟΙΜΑ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ				
Στοιχείο	Ποσότητα	Χρώμα καπακιού	Χρώμα διαλύματος	Περιγραφή / Περιεχόμενο
Αρνητικός έλεγχος	1 x 1,5ml	Πράσινο	Διαυγές	υλικό ελέγχου (διαλυμένος), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), Οξείδιο του νατρίου < 0,1 % (Συντηρητικό)
10 ng έλεγχος	1 x 1,5ml	Κόκκινο	Κίτρινο	υλικό ελέγχου (διαλυμένος), Οξείδιο του νατρίου < 0,1 %(Συντηρητικό), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA)
Ανάκτηση Tg	2 x 1,8ml	Μπλε	Κίτρινο	Θυρεοσφαιρίνη, Οξείδιο του νατρίου < 0,1 % (Συντηρητικό), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA)
Διακριβωτές	5 x 1,5ml	Λευκό	Κίτρινο*	Συγκέντρωση του κάθε βαθμονομητή : 3,75; 7,5; 15; 30; 60 ng/ml. Συστατικά στοιχεία: Θυρεοσφαιρίνη, Οξείδιο του νατρίου < 0,1 %(Συντηρητικό), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA)
Σύζευγμα, αντι-Tg	1 x 15ml	Λευκό	Πράσινο	μονοκλονικό αντι- Tg αντίσωμα σημαδεμένο με υπεροξειδάση από ραφανίδα, αλβουμίνη βόειου ορού (BSA)
Υπόστρωμα TMB	1 x 15ml	Μαύρο	Διαυγές	Σταθεροποιημένη τετραμεθυλβενζιδίνη και υπεροξείδιο του υδρογόνου (TMB/H_2O_2)
Διάλυμα διακοπής αντίδρασης	1 x 15ml	Λευκό	Διαυγές	1M Υδροχλωρικό οξύ
Πλάκα μικροτιτλοποίησης	12 x 8 ταινίες	Δεν είναι διαθέσιμο	Δεν είναι διαθέσιμο	Με αποσπώμενους υποδοχείς. Ανατρέξτε στην παράγραφο 1 για πληροφορίες σχετικά με την επικάλυψη.
* Η ένταση του χρώματος αυξάνεται με τη συγκέντρωση				
Απαιτούμενα υλικά:				
Ο αναγνώστης πλακών μικροτιτλοποίησης 450 nm αναγιγνώσκει φίλτρα ανάγνωσης και προαιρετικό 620 nm φίλτρα αναφοράς (600-690 nm). Γυάλινα εξαρτήματα (κύλινδρος 100-1000ml), δοκιμαστικοί σωλήνες για διαλύματα. Δονητής ανάμιξης, προχοϊδες ακρίβειας (10, 100, 200, 500, 1000 μl) ή προσαρμοζόμενη πολυπροχοϊδα (100-1000μl). Συσκευή πλύσης μικροπλάκας (300μl επαναλαμβανόμενη προχοϊδα, ή προχοϊδα πολλαπλών καναλιών ή αυτοματοποιημένο σύστημα), απορροφητικό χαρτί. Οι δοκιμασίες μας έχουν ως σχεδιαστεί για να χρησιμοποιηθούν με καθαρό ύδωρ σύμφωνα με τους ορισμούς της Φαρμακοποιίας Ηνωμένων Πολιτειών (USP 26 - NF 21) και της Ευρωπαϊκής φαρμακοποιίας (Eur.Ph. 4th ed.).				

4 Φύλαξη και χρόνος διατήρησης

Τα αντιδραστήρια του συνόλου αντιδραστηρίων και η μικροπλάκα πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8 °C/35,6-46,4 °F μέσα στους αυθεντικούς περιέκτες. Αραιωμένα διαλύματα, φυλάσσονται στους 2-8 °C/35,6-46,4 °F για ένα μήνα. Πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στη συσκευασία και στις ετικέτες του κάθε συστατικού.

Μη χρησιμοποιείται ληγμένα συστατικά στοιχεία του συνόλου αντιδραστηρίων! Πρέπει να αποφεύγεται η έντονη επίδραση φωτός στο διάλυμα υποστρώματος TMB. Οι μικοπλάκες να φυλάσσονται πάντοτε με ξηραντικό υλικό καλά κλεισμένες μέσα στη μεμβράνη της συσκευασίας.

5 Υποδείξεις και προφυλάξεις

5.1 Επικινδυνότητα για την υγεία

ΑΑΥΤΟ ΤΟ ΠΡΟΪΟΝ ΕΠΙΤΡΕΠΕΤΑΙ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΧΡΗΣΗ (IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ).

Πρέπει να χρησιμοποιείται από προσωπικό, το οποίο έχει κατατοπιστεί και εκπαιδευτεί ειδικά στη χρησιμοποίηση in vitro διαγνωστικών υλικών. Αν και αυτό το προϊόν δεν θεωρείται ιδιαίτερα τοξικό ή επικίνδυνο υπό συνθήκες ενδεδειγμένης χρήσης, συμβουλευτείτε τις παρακάτω πληροφορίες για τη διαφύλαξη της μέγιστης ασφάλειας:

Συστάσεις και μέτρα προφύλαξης

Μεμονωμένα συστατικά του συνόλου αντιδραστηρίων περιέχουν δυνητικά επικίνδυνα αντιδραστήρια, τα οποία είναι δυνατό να προκαλέσουν ερεθισμό των οφθαλμών και του δέρματος. ΠΡΟΣΟΧΗ! Διακριβωτές, έλεγχοι και ρυθμιστικά διαλύματα περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) ως συντηρητικό. Το NaN_3 μπορεί να είναι τοξικό εάν προληφθεί ή απορροφηθεί από το δέρμα ή τα μάτια. Το NaN_3 μπορεί να αντιδράσει με την εγκατάσταση μολύβδου και χαλκού σχηματίζοντας ιδιαίτερα εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλο όγκο ύδατος για να αποτρέψετε τη δημιουργία αζιδίων. Παρακαλώ ανατρέξετε στις διαδικασίες απολύμανσης όπως περιγράφονται από τη CDC ή άλλες τοπικές/ εθνικές οδηγίες.

Κατά τη διάρκεια της εργασίας με το σετ, απαγορεύεται το φαγητό, το ποτό και το κάπνισμα.Μη χρησιμοποιείτε την προχοΐδα (πιπέττα) δια μέσω του στόματος, φοράτε γάντια μίας χρήσης.

Τα αντιδραστήρια βιολογικός προέλευσης που περιέχονται σε αυτό το προϊόν αποδείχτηκαν κατά τον έλεγχο για ηπατίτιδα Β αντιγόνο επιφάνειας (HbsAg), ηπατίτιδα C και HIV 1 και 2 ως αρνητικά. Όμως, σε προϊόντα βιολογικός προέλευσης δε μπορεί ποτέ να αποκλειστεί πλήρως η πιθανότητα μόλυνσης με τους αναφερόμενους ή και με άλλους ακόμη άγνωστους παθογόνους οργανισμούς. Για τον λόγο αυτό, οι οροί ελέγχου, τα αντιδραστήρια βαθμονόμησης όπως επίσης και οι οροί των ασθενών χαρακτηρίζονται ως δυνητικά μολυσματικοί και πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τα εθνικά νομικά αξιώματα.

Επειδή το κιτ περιέχει υλικό ζωικής προέλευσης, όπως αναφέρεται στον πίνακα περιεχομένων, πρέπει να το χρησιμοποιείτε σύμφωνα με τις απαιτήσεις της εθνικής νομοθεσίας.

5.2 Γενικές υποδείξεις

Στην περίπτωση κατά την οποία οι πληροφορίες του προϊόντος, συμπεριλαμβανομένων των ετικετών, είναι ελλιπείς ή εσφαλμένες, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον προμηθευτή του κιτ δοκιμής.

Μην μπλέκετε η αντικαθιστάτε Μάρτυρες, Βαθμονομητές, Ενζυμα Σύζευξης η μικροπλάκες από διαφορετικές παρτίδες. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αποκλίσεις στα αποτελέσματα.

Αφήστε όλα τα συστατικά του σετ να λάβουν θερμοκρασία δωματίου πριν από την έναρξη της δοκιμασίας (20-32 °C/68-89,6 °F) και αναμείξτε καλά. Πρέπει οπωσδήποτε να τηρείται το καθορισμένο πρωτόκολλο για τη διεξαγωγή της δοκιμασίας.

Επώαση: Συνιστούμε απόδοση δοκιμής στους 30 °C/86 °F για αυτοματοπιημένα συστήματα.

Μην εκθέτετε ποτέ τα συστατικά του συνόλου αντιδραστηρίων σε θερμοκρασίες άνω των 37 °C/98,6 °F. Χρησιμοποιείτε για τη λήψη του διαλύματος του υποστρώματος πάντοτε καινούρια – συσκευασμένα ρύγχη για την πιπέτα, για να αποφεύγετε μολύνσεις. Αποφεύγετε την επαφή του διαλύματος υποστρώματος με έντονο φως. Μη χρησιμοποιείτε για το διάλυμα συζεύγματος ποτέ τα ίδια ρύγχη πιπέτας που έχουν έρθει σε επαφή με άλλα αντιδραστήρια.

Η τελική κλινική διάγνωση δεν πρέπει να τίθεται μόνο με βάση τα αποτελέσματα της διεξαγμένης δοκιμασίας, αλλά από τον ιατρό λαμβάνοντας υπόψη όλα τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα. Η διάγνωση πρέπει να επιβεβαιώνεται χρησιμοποιώντας διαφορετικές διαγνωστικές μεθόδους.

6 Λήψη δείγματος, προετοιμασία και φύλαξη

Συνιστάται η χρήση φρέσκων δειγμάτων ορού. Η λήψη του αίματος πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τα εθνικά νομικά αξιώματα.Να μη χρησιμοποιούνται: ικτερικά, λιπαιμικά, αιμολυμένα ή μολυσμένα από βακτήρια δείγματα ορού. Δείγματα ορών που περιέχουν σωματίδια, να τοποθετούνται με χαμηλή ταχύτητα στη συσκευή φυγοκέντρησης (<1000 x g). Συλλέγετε τα δείγματα αίματος σε καθαρά, στεγνά και κενά φιαλίδια.

Κατόπιν διαχωρισμού τα δείγματα πλάσματος πρέπει να χρησιμοποιηθούν εντός των πρώτων 8 ωρών, διαφορετικά πρέπει να φυλάσσονται κλεισμένα αεροστεγώς στους 2-8 °C/35,6-46,4 °F για 48 ώρες το μέγιστο. Σε περίπτωση που προβλέπεται μεγαλύτερη διάρκεια φύλαξης, τα δείγματα πρέπει να ψύχονται στους -20 °C/-4 °F. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4)

7 Διαδικασία της μεθόδου

7.1 Προετοιμασία

Αραίωση συμπυκνωμένων αντιδραστηρίων:

Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων: αραιώνετε 1:5 με αποσταγμένο νερό (π.χ. 20 ml συν 80 ml).
Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης: αραιώνετε 1:50 με αποσταγμένο νερό (π.χ. 20 ml συν 980 ml).
Για την αποφυγή τυχόν λαθών, συνιστάται η σήμανση των καπακιών των διάφορων αντιδραστηρίων βαθμονόμησης.

Πλύση:
Απαιτούνται 20 ml αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (1x) ανά 8 βυθίσματα ή 200 ml ανά 96 βυθίσματα π.χ. 4 ml συμπύκνωμα συν 196 ml αποσταγμένο νερό.

Αυτοματοποιημένη πλύση:

Για τη λειτουργία του εργαλείου και το νεκρό όγκο πρέπει να ληφθούν υπόψη πρόσθετες ποσότητες ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης

Χειροκίνητη πλύση:

Απομακρύνετε το υγρό χτυπώντας την πλάκα επάνω σε ένα απορροφητικό χαρτί. Βάζετε 300 µl αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης σε κάθε βύθισμα χρησιμοποιώντας την πιπέτα, περιμένετε 20 δευτερόλεπτα. Επαναλάβετε τη διαδικασία ακόμη δύο φορές.

Μικροπλάκες:

Απομακρύνετε τα βυθίσματα που δεν έχουν χρησιμοποιηθεί και φυλάσσετέ τα με ξηραντικό υλικό καλά κλεισμένα μέσα στη μεμβράνη της συσκευασίας σε δροσερό μέρος (2-8 °C/35,6-46,4 °F).

7.2 Σχήμα διανομής αντιδραστηρίων

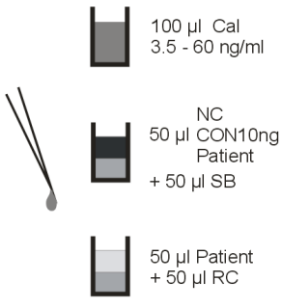
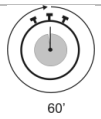
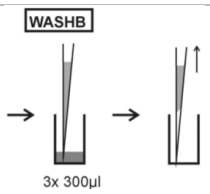
Προτείνουμε τη χρήση της πιπέτας για αντιδραστήρια βαθμονόμησης, ορούς ελέγχου και δείγματα ως εξής:

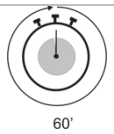
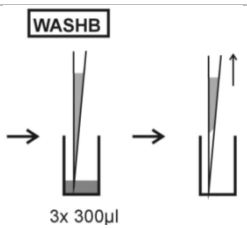
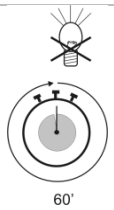
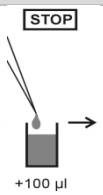
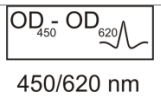
Για ΠΟΣΟΤΙΚΗ ερμηνεία

	1	2	3	4...
A	**CalA**	**CalE**	**P1 + SB**	**P1 + RC**
B	**CalA**	**CalE**	**P2 + SB**	**P2 + RC**
C	**CalB**	**CON 10ng + SB**	**P3 + SB**	**P3 + RC**
D	**CalB**	**CON 10ng + SB**	**...**	**...**
E	**CalC**	**NC + SB**	**...**	**...**
F	**CalC**	**NC + SB**	**...**	**...**
G	**CalD**		**...**	**...**
H	**CalD**		**...**	**...**

CalA: calibrator 3,75ng	CalD: calibrator 30ng	SB: sample buffer	P1: patient 1
CalB: calibrator 7,5ng	CalE: calibrator 60ng	NC: negative control	P2: patient 2
CalC: calibrator 15ng	Con 10ng: control 10ng	RC: Recovery	P3: patient 3
CON 10ng + SB: 50µl 10 ng control + 50µl sample buffer	NC + SB: 50µl negative control + 50µl sample buffer	P1 + SB: 50 µl patient`s sample + 50µl sample buffer	P1 + RC: 50µl patient`s sample + 50µl recovery

7.3 Βήματα εργασίας

Βήμα	*Περιγραφή*
1.	Πριν από το πιπετάρισμα βεβαιωθείτε ότι έχετε εκτελέσει τη διαδικασία προετοιμασίας από το βήμα 7.1 παραπάνω.
2.	Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα ανάλογα με τα επιθυμητά αποτελέσματα ποσοτικής ερμηνείας:
	ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ & ΔΕΙΓΜΑΤΑ
3.	 Τα δείγματα ασθενών θα πρέπει να υποβληθούν σε εξέταση με και χωρίς αντιδραστήριο TgRecovery και συνεπώς η δοκιμασία θα πρέπει να πραγματοποιηθεί εις διπλούν. a. Βάλτε με πιπέτα 100µl από κάθε βαθμονομητή στο αντίστοιχο βοθρίο του. b. Βάλτε με πιπέτα 50µl αρνητικού ορού ελέγχου, 10 ng έλεγχος, και από κάθε δείγμα ασθενούς σε ξεχωριστά βοθρία. c. Βάλτε με πιπέτα 50µl ρυθμιστικού διαλύματος δειγμάτων στον αρνητικό ορό ελέγχου, 10 ng ορού ελέγχου και καθένα από τα βοθρία με δείγμα ασθενούς, χωρίς αντιδραστήριο TgRecovery. • Για δεδομένα ασθενών με αντιδραστήριο TgRecovery, προσθέστε 50µl αντιδραστηρίου TgRecovery στα δείγματα ασθενών. Ανακινήστε προσεκτικά.
4.	 Επωάζετε για 60 λεπτά σε 20-32 °C/ 68-89,6 °F.
5.	 Πλένετε 3 φορές, κάθε φορά με 300 µl ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (αραιωμένο 1:50).

	ΣΥΖΕΥΓΜΑ	
6.		Βάζετε 100 µl διαλύματος συζεύγματος σε κάθε υποδοχέα χρησιμοποιώντας πιπέτα.
7.		Επωάζετε για 60 λεπτά σε 20-32 °C/ 68-89,6 °F.
8.		Πλένετε 3 φορές, κάθε φορά με 300 µl ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (αραιωμένο 1:50).
	ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	
9.		Βάζετε 100 µl διαλύματος υποστρώματος TMB σε κάθε υποδοχέα χρησιμοποιώντας την πιπέτα.
10.		Επωάζετε για 60 λεπτά σε 20-32 °C/ 68-89,6 °F. Προστατεύστε από το έντονο φως.
	ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΑΚΟΠΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ	
11.		Βάζετε 100 µl διαλύματος διακοπής αντίδρασης σε κάθε βύθισμα με τη σειρά που τοποθετήθηκε το υπόστρωμα χρησιμοποιώντας την πιπέτα.
12.		Επωάζετε για 5 λεπτά τουλάχιστον.
13.		Ανακινείτε προσεκτικά την πλάκα για 5 δευτερόλεπτα.
14.		Μετρήστε την απορρόφηση στα 450 nm εντός 30 λεπτών (συνιστάται προαιρετικά και στα 450/620 nm).

8 Ποσοτική και ποιοτική ερμηνεία

Ο προσδιορισμός επιτυγχάνεται βάσει μίας πρότυπης καμπύλης, στην οποία μεταφέρεται η οπτική πυκνότητα των διακριβωτών (άξονας ψ) έναντι της συγκέντρωσης σε ng/ml (άξονας x). Για τον προσδιορισμό συνιστάται η χρήση μίας γραμμικής παλινδρόμησης με συντεταγμένες log-log για την οπτική πυκνότητα και για τη συγκέντρωση (και οι δύο άξονες λογαριθμικά). Με βάση την καμπύλη εξακριβώνεται από την οπτική πυκνότητα του δείγματος η συγκέντρωση της Tg σε ng/ml.

Παράδειγμα προσδιορισμού
Ο σχεδιασμός της πρότυπης καμπύλης εκ νέου συνιστάται για κάθε νέα δοκιμασία.

Αντιδραστήρια βαθμονόμησης Tg	OD 450/620 nm	CV %
3,75 ng/ml	0,232	2,7
7,5 ng/ml	0,440	3,9
15,0 ng/ml	0,805	2,6
30,0 ng/ml	1,436	0,68
60,0 ng/ml	2,444	3,2

Τα δείγματα με τιμές μεγαλύτερες από το μέγιστο εύρος τιμών των αντιδραστηρίων βαθμονόμησης πρέπει να αναφέρονται ως" >Μέγ." Πρέπει να αραιώνονται κατάλληλα και να δοκιμάζονται ξανά. Τα δείγματα με τιμές μικρότερες από το εύρος τιμών των αντιδραστηρίων βαθμονόμησης πρέπει να αναφέρονται ως "<Ελάχ."
Ειδικά στοιχεία της παρτίδας, αναγράφονται στο συναπτόμενο πιστοποιητικό ελέγχου. Ιατρικά εργαστήρια μπορούν να διεξάγουν ελέγχους ποιότητος στο χώρο τους με δικούς τους ελέγχους και/ ή ορούς από την τράπεζα αίματος σύμφωνα με της ρυθμίσεις της Ε.Ε..

Συνιστάται σε κάθε εργαστήριο να δημιουργήσει τις δικές του φυσιολογικές τιμές, βασισμένες στη δική του τεχνική, ελέγχους, εξοπλισμό και πληθυσμούς ασθενών.

Στην περίπτωση κατά την οποία οι τιμές των ορών ελέγχου δεν συμφωνούν με τα κριτήρια, η δοκιμή είναι άκυρη και θα πρέπει να επαναληφθεί.

Θα πρέπει να ελεγχθούν τα παρακάτω τεχνικά ζητήματα: Ημερομηνίες λήξης των αντιδραστηρίων (που προετοιμάστηκαν), συνθήκες αποθήκευσης, πιπέτες, συσκευές, φωτόμετρο, συνθήκες επώασης και μέθοδος πλύσης.

Εάν τα στοιχεία τα οποία υποβλήθηκαν σε δοκιμή παρουσιάζουν απόκλιση ή άλλου είδους διαφοροποίηση από τις αναμενόμενες τιμές ή εάν δεν πληρούνται τα κριτήρια εγκυρότητας χωρίς εύλογη αιτία, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον προμηθευτή του κιτ δοκιμής.

Δοκιμασία ανάκτησης

Τα αντι –Tg αντισώματα ή μη ειδικές δράσεις στον ορό των ασθενών είναι δυνατό να οδηγήσουν σε διαταραχή των αποτελεσμάτων μέτρησης. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να διενεργείται μία δοκιμασία ανάκτησης, όπως περιγράφεται παρακάτω:

Παράλληλα με το δείγμα του ασθενή θα πρέπει να μετράται και το δείγμα του ασθενή εμπλουτισμένο με Tg ανάκτηση στην ίδια μέθοδο. Για να συμβεί αυτό, προσθέτονται σε 50 µl ορού του ασθενή 50 µl Tg ανάκτησης χρησιμοποιώντας την προχοΐδα.

Η ανάκτηση υπολογίζεται ως εξής:

$$\frac{\text{ng Tg/ml (PR1)} - \text{ng Tg/ml (P1)}}{\text{ng Tg/ml (C)}} \times 100 = \%\ \text{Ανάκτηση}$$

P1: Αποτέλεσμα ασθενή χωρίς Tg ανάκτηση

PR1: Αποτέλεσμα ασθενή με Tg ανάκτηση

C: 10 ng έλεγχος

Σε περίπτωση που η ανάκτηση δεν είναι επηρεασμένη (100 %), δηλ. δεν υφίστανται παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τον προσδιορισμό της Tg στον ορό, η συγκέντρωση Tg του δείγματος του ασθενή συν την Tg ανάκτηση ανέρχεται 10 ng πάνω από την συγκέντρωση Tg του δείγματος του ασθενή χωρίς την εισαγωγή της Tg ανάκτησης. Λαμβάνοντας υπόψη την ανακρίβεια που προκύπτει από τη χρήση της προχοΐδας θα πρέπει η ανάκτηση να κυμαίνεται μεταξύ 70 και 130 %. Όταν υπάρξουν διαταραχές, οι ανακτήσεις είναι δυνατό να βρίσκονται εκτός αυτής της περιοχής (< 70 % ή > 130 %) και ο προσδιορισμός με το αντίστοιχο δείγμα του ασθενή θα πρέπει να γίνεται μόνο με επιφύλαξη.

Η συγκέντρωση της Tg ανάκτησης αναφέρεται στο πιστοποιητικό ελέγχου και ανέρχεται περίπου στα 10 ng Tg/ml. **Η τιμή που αναφέρεται στο πιστοποιητικό να μη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό.**

Ερμηνεία

Τα θετικά αποτελέσματα θα πρέπει να ελέγχονται σύμφωνα με την κλινική κατάσταση, όπου και θα πρέπει να αποφασίζεται σε κάθε μεμονωμένη περίπτωση, εξατομικευμένα, πότε και πως φαίνεται απαραίτητη η εφαρμογή μίας θεραπείας. Συνιστάται, σε κάθε χρήστη να ορίζει τις δικές του φυσιολογικές και παθολογικές περιοχές τιμών, ανάλογα με τους δικούς του ασθενείς.

9 Τεχνικά στοιχεία

Υλικό δειγμάτων:	Ορός
Όγκος δειγμάτων:	100 µl ορός, αδιάλυτος
Ολικός χρόνος επώασης:	180 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (20-32 °C/68-89,6 °F)
Περιοχή μέτρησης:	3,75 - 60 ng/ml
Αναλυτική Ευαισθησία:	3,75 ng/ml
Φύλαξη:	σε 2-8 °C/35,6-46,4 °F στις αυθεντικές φιάλες
Αριθμός των προσδιορισμών:	96 δοκιμασίες

10 Στοιχεία Απόδοσης

10.1 Λειτουργική ευαισθησία

Η λειτουργική ευαισθησία του προκείμενου σετ εξακριβώθηκε με 3,75 ng/ml.

10.2 Ειδικότητα

Η πλάκα μικροτιτλοποίησης είναι επικαλυμμένη με μονοκλωνικά αντισώματα, τα οποία τάσσονται με υψηλή ειδικότητα ενάντια της ανθρώπινης θυρεοσφαιρίνης. Δε διαπιστώνονται διασταύρωσης με άλλα αντιγόνα.

10.3 Γραμμικότητα

Για επιλεγμένους ορούς μπόρεσε να εξακριβωθεί μία γραμμική συνάρτηση μεταξύ της αραίωσης και της συγκέντρωσης των αντισωμάτων σε αυτή τη δοκιμασία. Λόγω των ετερογενών ανθρώπινων αντισωμάτων όμως, δεν είναι δυνατό να αποκλειστεί το γεγονός ότι μεμονωμένοι οροί παρουσιάζουν μη γραμμική συμπεριφορά.

10.4 Διακρίβωση

Ελλείψει διεθνούς προτύπου αναφοράς, το σύστημα ποσοτικής μέτρησης βαθμονομείται σε αυθαίρετες μονάδες. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ng/ml.

10.5 Υπερδοσολογική δράση (High-dose-hook effect)

Επιδράσεις από υπερδοσολογία, αποκλείστηκαν μέχρι 100.000 ng Tg/ml.

10.6 Αλληλεπιδράσεις με αυτοαντισώματα

Επιλεγμένοι οροί με διάφορες συγκεντρώσεις αντι –Tg αντισωμάτων εμπλουτίστηκαν με Tg. Δεν παρατηρήθηκε καμία επιρροή των αποτελεσμάτων της μέτρησης. Εφόσον όμως δε μπορεί να αποκλειστεί η εμφάνιση πιθανής διαταραχής στη μέτρηση Tg διαφόρων ορών, θα πρέπει να διεξάγεται πάντοτε ταυτόχρονα και μία δοκιμασία ανάκτησης.

11 Βιβλιογραφία

Gebel, F. et al. The site of leakage of intrafollicular thyroglobulin into the blood stream in simple human goiter. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1983; 57: 915 - 919.

Uller, R.P. and van Herle, A.J. Effect of therapy on serum thyroglobulin levels in patients with Graves` disease J. Clin. Endocrinol. Metab. 1978; 46: 747 - 755.

Gardner, et al. Serum thyroglobulin in normal subjects and patients with hyperthyroidism due to Graves` disease: effects of T3, iodine, 131J, and antithyroid drugs. Clin. Endocr. (Oxf.) 1979; 11: 585 - 594.

Kawamura, S. et al. Serum thyroglobulin changes in patients with Graves` disease treated with long term antithyroid drug therapy. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1983; 56: 507 - 512.

Czernichow, P. et al. Plasma thyroglobulin measurements help determine the type of thyroid defect in congential hypothyrodism. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1983; 56: 242 - 245.

Lothar Thomas: Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik., 8. Auflage, TH Books

CLSI Guideline GP44-A4: Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests

12 Ρυθμιστικά σύμβολα

IVD	- Diagnosi in vitro	- For in vitro diagnostic use
	- Pour diagnostic in vitro	- Para uso diagnóstico in vitro
	- In Vitro Diagnostikum	- In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Bestellnummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo	- Unique Device Identifier
	- Identifiant unique de l'appareil	- Identificador único del dispositivo
	- eindeutige Produktidentifizierung	- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Identificador único do dispositivo	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Déclaracão CE de Conformidade	
Σ 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
eIFU www.AESKU.COM	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso	- See electronical instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation électronique	- Siga las instrucciones electrónicas de uso
	- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten	- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Seguir as instruções electrónicas de utilização	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	
+2°C +8°C	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	
CON 10ng	- Controllo 10 ng	- Positive 10 ng
	- Contrôle 10 ng	- Control 10 ng
	- Kontrolle 10 ng	- 10 ng ορός ελέγχου
	- Controlo 10 ng	
CON –	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	
CAL	- Calibratore	- Calibrator
	- Etalon	- Calibrador
	- Kalibrator	- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	
SB 5x	- Tampone campione	- Sample buffer
	- Tampon Echantillons	- Tampón Muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Diluente de amostra	
RC	¨ Recupero	¨ Recovery
	¨ Corrélation	¨ Recuperado
	¨ Wiederfindung	¨ Ανάκτηση
	¨ Recuperacão	