



## Instructions for Use

# Thyroglobulin ELISA

IVD

CE

REF EIA-3377

Σ 96



DRG Instruments GmbH, Germany  
Frauenbergstraße. 18, D-35039 Marburg  
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50  
Website: [www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)  
E-mail: [drg@drg-diagnostics.de](mailto:drg@drg-diagnostics.de)



DRG International, Inc., USA  
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081  
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556  
Website: [www.drg-international.com](http://www.drg-international.com)  
E-mail: [corp@drg-international.com](mailto:corp@drg-international.com)

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.**  
**Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.**  
**Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.**  
**Por favor, se usa solo la versión válida de la metodico técnico incluido aquí en el kit.**  
**Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**  
**Por favor, use apenas a versão válida das instruções de utilização fornecidas com o kit.**

1	INTENDED PURPOSE [EN]	3
2	PRINCIPLE OF THE TEST.....	3
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS.....	3
4	CONTENTS OF THE KIT .....	4
5	MATERIALS REQUIRED.....	4
6	SPECIMEN COLLECTION, STORAGE AND HANDLING.....	5
7	STORAGE AND STABILITY.....	5
8	PROCEDURAL NOTES.....	5
9	PREPARATION OF REAGENTS.....	5
10	PREPARATION OF SAMPLES .....	5
11	TEST PROCEDURE.....	6
12	VALIDATION.....	6
13	CALCULATION OF RESULTS .....	6
14	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	7
15	LIMITATIONS OF THE PROCEDURE.....	8
1	DESTINAZIONE D'USO [IT]	9
2	METODOLOGIA.....	9
3	INDICAZIONI E MISURE PRECAUZIONALI.....	9
4	CONTENUTO DEL KIT .....	10
5	MATERIALE NECESSARIO.....	10
6	RACCOLTA, CONSERVAZIONE, MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI .....	11
7	CONSERVAZIONE E STABILITÀ.....	11
8	AVVERTENZE OPERATIVE .....	11
9	PREPARAZIONE DEI REAGENTI.....	11
10	PREPARAZIONE DEI CAMPIONI .....	11
11	ESECUZIONE DEL TEST .....	12
12	CONVALIDA.....	12
13	CALCOLO DEI RISULTATI .....	13
14	CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO.....	13
15	LIMITI DEL PROCEDIMENTO.....	14
1	FINALIDAD PREVISTA [ES]	15
2	METODOLOGÍA.....	15
3	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES .....	15
4	CONTENIDO DEL KIT.....	16
5	EQUIPOS REQUERIDOS DE LABORATORIO .....	16
6	RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACION.....	17
7	CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD .....	17
8	NOTAS TECNICAS .....	17
9	PREPARACIÓN DE REACTIVOS .....	17
10	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS .....	17
11	PROCEDIMIENTO .....	18
12	VALIDACIÓN.....	18
13	CÁLCULO DE RESULTADOS .....	19
14	LOS CARACTERISTICAS DE FUNCIONAMIENTO .....	19
15	LÍMITE DEL PROCEDIMIENTO .....	20

1	DESTINATION [FR] .....	21
2	METHODOLOGIE .....	21
3	PRECAUTIONS D'USAGE .....	21
4	CONTENU DU COFFRET .....	22
5	MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI .....	22
6	OBTENTION, STOCKAGE ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS .....	23
7	STOCKAGE ET STABILITE .....	23
8	RECOMMANDATIONS .....	23
9	PREPARATION DES REACTIFS .....	23
10	ECHANTILLONS PATIENT .....	23
11	MODE OPERATOIRE .....	24
12	VALIDATION .....	24
13	CALCUL DES RESULTATS .....	25
14	PERFORMANCES DE LA TROSSE .....	25
15	LIMITES DU PROCEDE .....	26
16	REFERENCES / LITERATURE / RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI / BIBLIOGRAFÍA / RÉFÉRENCES .....	27
	SYMBOLS USED .....	28

## 1 INTENDED PURPOSE

Thyroglobulin ELISA is a test system for the quantitative measurement of thyroglobulin in human serum or plasma. This product is intended for professional in vitro diagnostic use only.

Elevated thyroglobulin levels are found in patients with pathological changes to the thyroid gland, e.g. hyperthyroidism, thyroiditis, thyroid carcinoma. The Thyroglobulin ELISA is primarily used for postoperative monitoring of patients with differentiated thyroid carcinoma.

## 2 PRINCIPLE OF THE TEST

Highly specific anti-human-thyroglobulin antibodies are bound to microwells.

The reaction is based on indirect enzyme immuno assay (ELISA) method with these steps:

thyroglobulin present in a patient sample binds to the antibody coated forming an antigen-antibody-complex. Washing of the microwells removes unbound unspecific serum and plasma components. During incubation with enzyme-conjugate immunologically a conjugate/antibody/antigen complex is formed. Washing of the microwells removes unbound conjugate. An anti-thyroglobulin enzyme substrate in the presence of bound conjugate hydrolyzes to form a blue colour. The addition of an acid stops the reaction forming a yellow end-product. The intensity of this yellow colour is measured photometrically at 450 nm. The amount of colour is directly proportional to the concentration of antibodies present in the original sample.

This assay includes a recovery test.

## 3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

- All reagents of this kit are intended for professional in vitro diagnostic use only.
- Components containing human serum were tested and found negative for HBsAg, HCV, HIV1 and HIV2 by FDA approved methods. No test can guarantee the absence of HBsAg, HCV, HIV1 or HIV2, and so all human serum based reagents in this kit must be handled as though capable of transmitting infection.
- Bovine serum albumin (BSA) used in components has been tested for BSE and found negative.
- Avoid contact with the substrate TMB (3,3',5,5'-Tetramethyl-benzidine).
- Stop solution contains acid, classification is non-hazardous. Avoid contact with skin.
- Control, sample buffer and wash buffer contain sodium azide 0.09% as preservative. This concentration is classified as non-hazardous.
- Enzyme conjugate contains ProClin 300 0.05% as preservative. This concentration is classified as non-hazardous.

During handling of all reagents, controls and serum samples observe the existing regulations for laboratory safety regulations and good laboratory practice:

- First aid measures:  
In case of skin contact, immediately wash thoroughly with water and soap. Remove contaminated clothing and shoes and wash before reuse. If system fluid comes into contact with skin, wash thoroughly with water. After contact with the eyes carefully rinse the opened eye with running water for at least 10 minutes. Get medical attention if necessary.
- Personal precautions, protective equipment and emergency procedures:  
Observe laboratory safety regulations. Avoid contact with skin and eyes. Do not swallow. Do not pipette by mouth. Do not eat, drink, smoke or apply makeup in areas where specimens or kit reagents are handled. When spilled, absorb with an inert material and put the spilled material in an appropriate waste disposal.
- Exposure controls / personal protection:  
Wear protective gloves of nitril rubber or natural latex. Wear protective glasses. Used according to intended use no dangerous reactions known.
- Conditions to avoid:  
Since substrate solution is light-sensitive. Store in the dark.
- For disposal of laboratory waste the national or regional legislation has to be observed.

Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying control sera.

#### 4 CONTENTS OF THE KIT

Symbols		Sufficient for 96 determinations
<b>MICROPLATE</b>	1	One divisible <b>microplate</b> consisting of 12 modules of 8 wells each. Ready to use.
<b>CALIBRATOR A</b>	1x 1.5 mL	<b>Calibrator A, 0 ng/mL</b> , containing serum/buffer matrix (PBS, BSA, detergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use.
<b>CALIBRATOR B</b>	1x 1.5 mL	<b>Calibrator B, 3 ng/mL</b> , containing thyroglobulin in a serum/buffer matrix (PBS, BSA, detergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use.
<b>CALIBRATOR C</b>	1x 1.5 mL	<b>Calibrator C, 10 ng/mL</b> , containing thyroglobulin in a serum/buffer matrix (PBS, BSA, detergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use.
<b>CALIBRATOR D</b>	1x 1.5 mL	<b>Calibrator D, 30 ng/mL</b> , containing thyroglobulin in a serum/buffer matrix (PBS, BSA, detergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use.
<b>CALIBRATOR E</b>	1x 1.5 mL	<b>Calibrator E, 100 ng/mL</b> , containing thyroglobulin in a serum/buffer matrix (PBS, BSA, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use.
<b>CALIBRATOR F</b>	1x 1.5 mL	<b>Calibrator F, 300 ng/mL</b> , containing thyroglobulin in a serum/buffer matrix (PBS, BSA, detergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use.
<b>CONTROL +</b>	1x 1.5 mL	<b>Control positive</b> , containing thyroglobulin in a serum/buffer matrix (PBS, BSA, detergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use. The concentration is specified on the certificate of analysis.
<b>CONTROL -</b>	1x 1.5 mL	<b>Control negative</b> , containing thyroglobulin in a serum/buffer matrix (PBS, BSA, detergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use. The concentration is specified on the certificate of analysis.
<b>RECOVERY</b>	1x 3 mL	<b>Recovery</b> , 50 ng/mL, containing thyroglobulin in a serum/buffer matrix (PBS, BSA, detergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%), yellow. Ready to use.
<b>DILUENT</b>	20 mL	<b>Sample Buffer STP</b> , containing PBS, BSA, detergent, preservative NaN <sub>3</sub> 0.09%, yellow, Ready to use.
<b>CONJUGATE</b>	15 mL	<b>Enzyme Conjugate</b> ; containing anti-human thyroglobulin antibodies, HRP labelled; PBS, BSA, detergent, preservative Proclin 0.05%, light red. Ready to use.
<b>TMB</b>	15 mL	<b>TMB Substrate</b> ; containing 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin, colourless. Ready to use.
<b>STOP</b>	15 mL	<b>Stop Solution</b> ; contains acid. Ready to use.
<b>WASH</b>	20 mL	<b>Wash Buffer</b> , containing Tris, detergent, preservative NaN <sub>3</sub> 0.09%; 50X conc.
	1	Instruction for Use
	1	Certificate of Analysis

#### 5 MATERIALS REQUIRED

- Microplate reader capable of endpoint measurements at 450 nm; optional: reference filter at 620 nm
- Data reduction software
- Multi-channel dispenser or repeatable pipette for 100 µL
- Vortex mixer
- Pipettes for 50 µL, 100 µL and 1000 µL
- Laboratory timing device
- Distilled or deionised water
- Measuring cylinder for 1000 mL and 100 mL
- Plastic container for storage of the wash solution

This ELISA is suitable for use on open automated ELISA processors. Each assay has to be validated on the respective automated system. Detailed information is provided upon request.

## 6 SPECIMEN COLLECTION, STORAGE AND HANDLING

- Collect whole blood specimens using acceptable medical techniques to avoid hemolysis.
- Allow blood to clot and separate the serum or plasma by centrifugation.
- Test serum should be clear and non-hemolyzed. Contamination by hemolysis or lipemia should be avoided, but does not interfere with this assay.
- Specimens may be refrigerated at 2 °C - 8 °C for up to five days or stored at -20 °C up to six months.
- Avoid repetitive freezing and thawing of serum or plasma samples. This may result in variable loss of antibody activity.
- Testing of heat-inactivated sera is not recommended.

## 7 STORAGE AND STABILITY

- Store test kit at 2 °C - 8 °C in the dark.
- Do not expose reagents to heat, sun, or strong light during storage and usage.
- Store microplate sealed and desiccated in the clip bag provided.
- Shelf life of the unopened test kit is 18 months from day of production. Unopened reagents are stable until expiration of the kit. See labels for individual batch.
- Diluted Wash Buffer and Sample Buffer are stable for at least 30 days when stored at 2 °C - 8 °C.  
We recommend consumption on the same day.

## 8 PROCEDURAL NOTES

- Do not use kit components beyond their expiration dates.
- Do not interchange kit components from different lots and products.
- All materials must be at room temperature (20 °C - 28 °C) prior to use.
- Prepare all reagents and samples. Once started, perform the test without interruption.
- Double determinations may be done. By this means pipetting errors may become obvious.
- Perform the assay steps only in the order indicated.
- Always use fresh sample dilutions.
- Pipette all reagents and samples into the bottom of the wells.
- To avoid carryover or contamination, change the pipette tip between samples and different kit controls.
- Wash microwells thoroughly and remove the last droplets of wash buffer.
- All incubation steps must be accurately timed.
- Do not re-use microplate wells.

## 9 PREPARATION OF REAGENTS

### ***Wash Buffer (WASH)***

Dilute the contents of one vial of the buffered wash solution concentrate (50x) with distilled or deionised water to a final volume of 1000 mL prior to use.

### ***Sample Buffer STP (DILUENT)***

Sample buffer STP is ready to use.

## 10 PREPARATION OF SAMPLES

Use undiluted sample.

**Note:** Calibrators / Controls are ready to use and need not be diluted.

## 11 TEST PROCEDURE

Prepare enough microplate modules for all calibrators / controls and patient samples.

1. Pipette **50 µL** of calibrators, controls and patient samples into the wells.  
Calibrators and controls: add **50 µL** sample buffer  
Patient samples: add **50 µL** samples buffer (unspiked) /  
add **50 µL** RECOVERY (spiked)
2. Incubate for **60 minutes** at room temperature (20 °C - 28 °C).
3. Discard the contents of the microwells and **wash 3 times with 300 µL** of wash solution.
4. Dispense **100 µL** of enzyme conjugate into each well.
5. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
6. Discard the contents of the microwells and **wash 3 times with 300 µL** of wash solution.
7. Dispense **100 µL** of TMB substrate solution into each well.
8. Incubate for **15 minutes** at room temperature
9. Add **100 µL** of stop solution to each well of the modules
10. Incubate for **5 minutes** at room temperature.
11. **Read** the optical density at 450 nm (reference 600-690 nm) and calculate the results. The developed colour is stable for at least 30 minutes. Read during this time.

Example for a pipetting scheme:

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>A</b>	A	P1	P1+R									
<b>B</b>	B	P2	P2+R									
<b>C</b>	C	P3	P3+R									
<b>D</b>	D	P4	P4+R									
<b>E</b>	E	P5	P5+R									
<b>F</b>	F	P6	P6+R									
<b>G</b>	C+	P7	P7+R									
<b>H</b>	C-	P8	P8+R									

P1, ... patient sample (unspiked), P1+R, ... patient sample + **RECOVERY**, A-F calibrators, C+, C- controls

### 11.1 RECOVERY Test

The presence of autoantibodies against thyroglobulin (anti-TG) can interfere with the determination of human thyroglobulin (hTG) in patient samples: anti-TG can attach to epitopes of hTG molecules and thus cause false negative results in the determination of hTG. Therefore, it is necessary to prove the presence of anti-TG autoantibodies in patient samples. This can be done either by direct quantitative measurement with an anti-TG test (e.g. EIA-3561) or indirectly by recovery experiments in combination with the quantitative thyroglobulin determination.

In this Thyroglobulin assay a recovery test is included:

A patient sample is determined twice, unspiked and spiked with exogenous hTG called **RECOVERY** which contains exactly 50 ng/mL hTG. The recovery test provides evidence as to the presence of anti-TG autoantibodies.

Neither the correct anti-TG concentration nor the exact thyroglobulin concentration in presence of anti-TG can be calculated with this measurement.

## 12 VALIDATION

Test results are valid if the optical densities at 450 nm for calibrators / controls and the results for controls comply with the reference ranges indicated on the Certificate of Analysis enclosed in each test kit.

If these quality control criteria are not met the assay run is invalid and should be repeated.

## 13 CALCULATION OF RESULTS

For quantitative results plot the optical density of each calibrator versus the calibrator concentration to create a calibration curve. The concentration of patient samples may then be estimated from the calibration curve by interpolation.

Using data reduction software a 4-Parameter-Fit with lin-log coordinates for optical density and concentration is the data reduction method of choice.

The percentage recovery is calculated:

$$\% \text{ recovery} = (\text{ng/mL hTG spiked}/\text{ng/mL hTG non-spiked} + 50 \text{ ng/mL}) \times 100$$

Recovery should be expected in the range of 80-120 %.

If percentage of thyroglobulin recovery is below or above this range, thyroglobulin values for the respective patient sample should be excluded for further assessment.

## 14 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 14.1 Calibration

The assay system is calibrated against the international Certified Reference Material CRM 457 from BCR, Brussels for human Thyroglobulin.

### 14.2 Measuring range

The calculation range of this ELISA assay is 0 - 300 ng/mL

### 14.3 Expected values

In a normal range study with samples from healthy blood donors the following ranges have been established with this ELISA assay:

Cut-off: 2 - 50 ng/mL

### 14.4 Interpretation of results

According to literature cut-off values for serum thyroglobulin of around 60 ng/mL, with a median of 5 to 10 ng/mL. In newborn babies as well as in pregnant woman of the 3rd trimester higher thyroglobulin concentrations may be detected. For comprehensive interpretation of thyroglobulin concentrations knowledge of alimentary iodine supply is indispensable. In regions with endemic goiter hTG values tend to be higher. In patients with total thyroidectomy no detectable thyroglobulin should be present after an X-ray therapy. Every increase of thyroglobulin to detectable serum concentrations is indicative for recidivation on thyroglobulin producing metastasis.

### 14.5 Linearity

Patient samples containing high levels of thyroglobulin were serially diluted in sample buffer to demonstrate the dynamic range of the assay and the upper / lower end of linearity. Activity for each dilution was calculated from the calibration curve using a 4-Parameter-Fit with lin-log coordinates.

Sample	Dilution	Observed [ng/mL]	Expected [ng/mL]	O/E [%]
1	1:1	268.0	268.0	100
	1:2	141.0	134.0	105
	1:4	65.0	67.0	97
	1:8	31.0	34.0	91
2	1:1	207.0	207.0	100
	1:2	101.0	104.0	97
	1:4	50.0	52.0	96
	1:8	24.0	26.0	92

### 14.6 Limit of detection

Functional sensitivity was determined to be: 1 ng/mL

## 14.7 Reproducibility

### Intra-assay precision:

Coefficient of variation (CV) was calculated for each of three samples from the results of 24 determinations in a single run. Results for precision-within-assay are shown in the table below.

### Inter-assay precision:

Coefficient of variation (CV) was calculated for each of three samples from the results of 6 determinations in 5 different runs. Results for run-to-run precision are shown in the table below.

Intra-Assay		
Sample	Mean [ng/mL]	CV [%]
1	33.0	1.9
2	93.0	2.4
3	227.0	3.2

Inter-Assay		
Sample	Mean [ng/mL]	CV [%]
1	31.0	1.7
2	88.0	1.7
3	212.0	1.1

## 14.8 Interfering substances

No interference has been observed with haemolytic (up to 1000 mg/dL) or lipemic (up to 3 g/dL triglycerides) sera or plasma, or bilirubin (up to 40 mg/dL) containing sera or plasma.

Nor have any interfering effects been observed with the use of anticoagulants (Citrate, EDTA, Heparin).

However for practical reasons it is recommended that grossly hemolyzed or lipemic samples should be avoided.

## 15 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

This assay is a diagnostic aid. A definite clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated concerning the entire clinical picture of the patient. Also every decision for therapy should be taken individually.

The above pathological and normal reference ranges for antibodies in patient samples should be regarded as recommendations only. Each laboratory should establish its own ranges according to ISO 15189 or other applicable laboratory guidelines.

## 1 DESTINAZIONE D'USO

Thyroglobulin ELISA è un test immunometrico per la misurazione quantitativa della tireoglobulina in campioni di siero umano o plasma.

Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso professionale nella diagnostica in vitro.

Si riscontrano livelli elevati di tireoglobulina in pazienti con anomalie patologiche della tiroide, come ad esempio ipertiroidismo, tiroidite e carcinoma tiroideo. Il Tireoglobulina ELISA è utilizzato principalmente per il monitoraggio post-operatorio di pazienti affetti da carcinoma tiroideo differenziato.

## 2 METODOLOGIA

Micriplastra rivestito con altamente specifici anti-umano-tireoglobulina anticorpi

La determinazione è basata su una reazione immune indiretta legata a un enzima con le seguenti fasi:

tireoglobulina presenti nei campioni positivi legano gli anticorpi presenti sulla superficie dei pozzetti di micriplastra ormando un complesso antigene-anticorpo. Dopo un periodo di incubazione, una prima fase di lavaggio rimuove le molecole non legate e le molecole non specifiche legate. Successivamente l'enzima coniugato anti-tireoglobulina aggiunto lega il complesso antigene-anticorpo fissato. Dopo un periodo di incubazione, una seconda fase di lavaggio rimuove l'enzima coniugato non legato. L'aggiunta della soluzione di enzima-substrato provoca idrolisi e la comparsa del colore durante l'incubazione. L'aggiunta di un acido interrompe la reazione formando un giallo prodotto finale.

L'intensità del colore giallo è correlata alla concentrazione del complesso antigene-anticorpo e può essere misurata fotometricamente a 450 nm.

In questo dosaggio della tireoglobulina la prova di recupero è incluso.

## 3 INDICAZIONI E MISURE PRECAUZIONALI

- Tutti i reagenti di questa confezione di prova sono destinati esclusivamente all'uso da parte di personale specializzato nella diagnostica in vitro.
- I componenti, che contengono siero umano, sono stati testati con metodi riconosciuti dalla FDA per rilevare la presenza di HBsAg, HCV, HIV1 e HIV2 e sono risultati negativi. Poiché nessun test può garantire l'assenza di HBsAg, HCV, HIV1 e HIV2, consigliamo di trattare tutti i componenti della confezione di prova contenenti siero come materiale potenzialmente infettivo.
- L'albumina di siero bovino (BSA), contenuta nei componenti, è stata testata per rilevare la presenza di ESB ed è risultata negativa.
- Evitare il contatto con il substrato enzimatico TMB (3,3',5,5'-tetrametil benzidina).
- Soluzione Stopante contiene acido. Questa concentrazione è classificata come non pericolosa. Evitare il contatto con gli occhi.
- Il mezzo di controllo, il tampone e il tampone di lavaggio contengono 0.09% di azoturo di sodio come conservante. Questa concentrazione non è classificata come pericolosa.
- Il coniugato enzimatico contiene 0.05% di ProClin 300 come conservante. Questa concentrazione è classificata come non pericolosa.

Durante la manipolazione di reagenti, mezzi di controllo e campioni dei pazienti si devono osservare le normali norme di sicurezza e la buona prassi di laboratorio:

- Misure di pronto soccorso: in caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e accuratamente con acqua e sapone. Togliersi abiti e scarpe contaminati e lavarli prima di usarli nuovamente. Se il liquido del sistema dovesse entrare in contatto con la cute, lavare accuratamente con acqua. Dopo il contatto con gli occhi, sciacquare con acqua corrente per almeno 10 minuti con le palpebre ben aperte. In caso di necessità consultare un medico.
- Misure in caso di rilascio involontario: osservare le norme di sicurezza della buona prassi di laboratorio. Evitare il contatto con occhi e cute. Non ingerire. Non pipettare con la bocca. Non mangiare, bere, fumare o truccarsi nei luoghi in cui vengono manipolati i campioni oppure i componenti del prodotto. Raccogliere eventuali versamenti con materiale inerte ed eseguire uno smaltimento adeguato dei rifiuti.
- Dispositivi di protezione individuale: indossare guanti protettivi in lattice o nitrile. Indossare occhiali di protezione. In caso di uso conforme non sono note reazioni pericolose.
- Condizioni da evitare: poiché il substrato TMB è fotosensibile, immagazzinare al buio.
- I rifiuti devono essere smaltiti in conformità alle disposizioni ambientali nazionali e locali.

Osservare le direttive per il controllo di qualità nei laboratori medici riguardanti il trasporto di sieri di riferimento e/o pool di sieri.

#### 4 CONTENUTO DEL KIT

Simboli		Sufficiente per 96 determinazioni
<b>MICROPLATE</b>	1	<b>Micripiastre</b> a pozetti separabili costituita da 12 strisce da 8 pozetti. Pronto per l'uso.
<b>CALIBRATOR A</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibratore A, 0 ng/mL</b> , contenente siero matrice / tampone (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09%). Pronto per l'uso.
<b>CALIBRATOR B</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibratore B, 3 ng/mL</b> , contenente tireoglobulina in un siero matrice / tampone (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09%). Pronto per l'uso.
<b>CALIBRATOR C</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibratore C, 10 ng/mL</b> , contenente tireoglobulina in un siero matrice / tampone (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09%). Pronto per l'uso.
<b>CALIBRATOR D</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibratore D, 30 ng/mL</b> , contenente tireoglobulina in un siero matrice / tampone (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09%). Pronto per l'uso.
<b>CALIBRATOR E</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibratore E, 100 ng/mL</b> , contenente tireoglobulina in un siero matrice / tampone (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09%). Pronto per l'uso.
<b>CALIBRATOR F</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibratore F, 300 ng/mL</b> , contenente tireoglobulina in un siero matrice / tampone (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09%). Pronto per l'uso.
<b>CONTROL +</b>	1x 1,5 mL	<b>Controllo positivo</b> contiene tireoglobulina, PBS, BSA, detergente; NaN <sub>3</sub> 0,09% come conservante. Pronto per l'uso. La concentrazione è specificata nel certificato di analisi.
<b>CONTROL -</b>	1x 1,5 mL	<b>Controllo negativo</b> contiene tireoglobulina, PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09% come conservante. Pronto per l'uso. La concentrazione è specificata nel certificato di analisi.
<b>RECOVERY</b>	1x 3 mL	<b>Recupero</b> , 50 ng/mL, contenente tireoglobulina un siero matrice / tampone (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09%). Pronto per l'uso.
<b>DILUENT</b>	20 mL	<b>Tampone del campione STP</b> ; giallo; PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09% come conservante, Pronto per l'uso.
<b>CONJUGATE</b>	15 mL	<b>Coniugato enzimatico</b> ; rosso chiaro; contiene anticorpi tireoglobulina antiumani marcati con perossidasi, PBS, BSA, detergente; 0,05% Proclin come conservante. Pronto per l'uso.
<b>TMB</b>	15 mL	<b>TMB Substrato</b> . Reagente pronto all'uso.
<b>STOP</b>	15 mL	<b>Soluzione Stopante</b> (contiene acido). Pronto per l'uso.
<b>WASH</b>	20 mL	<b>Tampone di lavaggio</b> ; contiene elettroforesi triacetato, detergente, NaN <sub>3</sub> 0,09% come conservante; concentrato 50x.
	1	Istruzioni per l'uso
	1	Certificato di analisi

#### 5 MATERIALE NECESSARIO

- Lettore di micripiastre con possibilità di misurazione end point, a 450 nm; riferimento 620 nm opzionale
- Software per l'elaborazione dei dati
- Dispensatore multicanale o pipetta sequenziale da 100 mL
- Micropipette con puntali monouso 50 µL, 100 µL, 1000 µL
- Agitatore di tipo vortex
- Orologio da laboratorio
- Acqua distillata oppure deionizzata
- Cilindro di misura per 1000 mL, 100 mL
- Bottiglie di plastica per la conservazione della soluzione di lavaggio

#### Automazione

Questo saggio ELISA può essere utilizzato su processori automatici aperti ELISA. L'applicazione deve essere convalidata sul rispettivo sistema automatizzato. Le informazioni sono fornite su richiesta.

## 6 RACCOLTA, CONSERVAZIONE, MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

- I campioni di sangue si devono ottenere in conformità alle direttive vigenti.
- Lasciare che il sangue si coaguli e ricavare il siero per centrifugazione.
- L'uso di sieri emolitici, lipemicici ed itterici va evitato.
- I campioni di siero e di plasma si possono conservare raffreddati a 2 °C - 8 °C fino a 5 giorni.  
Se si prevede una conservazione più lunga, i campioni dovranno essere aliquotati e surgelati a -20 °C.
- Evitare lo scongelamento ed il congelamento ripetuti! Questo può portare alla perdita variabile dell'attività autoimmune o degli anticorpi.
- L'uso di sieri termoattivati è sconsigliato.

## 7 CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Immagazzinamento della confezione di prova a 2 °C - 8 °C al buio.
- Durante l'immagazzinamento e l'utilizzo non esporre i reagenti a calore, sole o eccessiva luce.
- Immagazzinare micropiastra nel sacchetto con clip in dotazione, sigillate e con il dissecante.
- La confezione di prova non aperta può essere conservata per 18 mesi dalla data di produzione.  
I reagenti non aperti sono stabili fino alla scadenza della confezione di prova. Vedere l'etichetta del singolo lotto.
- Il tampone di lavaggio diluito e il tampone del campione diluito sono stabili per almeno 30 giorni a una temperatura di 2 °C - 8 °C. Consigliamo di consumare in giornata le soluzioni pronte.

## 8 AVVERTENZE OPERATIVE

- Non usare kit scaduti.
- Non intercambiare componenti di kit con diversi numeri di lotto e prodotti.
- Tutti i materiali devono essere conservati a temperatura ambiente.
- Preparare tutti i reagenti ed i campioni. Una volta avviato il ciclo analitico, eseguito la prova senza interruzioni.
- Determinazioni doppie possono essere fatto. In questo modo errori di pipettamento può diventare evidente.
- Utilizzare la procedura analitica indicata.
- Usare sempre campioni freschi.
- Pipettare reagenti e campioni sul fondo del pozzetto.
- Per evitare di riporto o contaminazione, cambiare la punta della pipetta tra i campioni ed i controlli kit differenti.
- Lavare accuratamente i pozzetti e rimuovere tutte le goccioline di tampone di lavaggio al fine.
- Rispettare accuratamente i tempi di incubazione.
- Non riutilizzare piastre già usate.

## 9 PREPARAZIONE DEI REAGENTI

### **Tampone di lavaggio (WASH)**

Il contenuto di ogni flacone del concentrato del tampone di lavaggio (20 mL) va diluito prima dell'uso fino ad un volume finale di 1000 mL (1 litro), aggiungendo dell'acqua distillata.

### **Tampone del campione STP (DILUENT)**

Pronto per l'uso.

## 10 PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Utilizzare campioni di pazienti non diluiti.

**Nota:** I calibratori / controlli sono pronti per l'uso e non necessitano di diluizioni.

## 11 ESECUZIONE DEL TEST

Prelevare il numero di strip necessario per l'analisi in funzione del numero di campioni, controlli e calibratori.

1. Dispensare 50 µL di calibratori, controlli e campioni paziente nei rispettivi pozzetti.  
Calibratori e controlli: aggiungere **50 µL** di buffer del campione.  
I campioni dei pazienti: aggiungere **50 µL** di buffer di campioni (non a spillo) / aggiungere **50 µL RECOVERY** (a spillo).
2. Incubare per **60 min** a temperatura ambiente (20 °C - 28 °C).
3. Svuotare i pozzetti e lavare **3 volte con 300 µL** di soluzione di lavaggio.
4. Dispensare **100 µL** di coniugato in ciascun pozzetto.
5. Incubare per **60 min** a temperatura ambiente (20 °C - 28 °C).
6. Svuotare i pozzetti e lavare **3 volte con 300 µL** di soluzione di lavaggio.
7. Dispensare **100 µL** di TMB in ciascun pozzetto.
8. Incubare per **15 min** a temperatura ambiente (20 °C - 28 °C).
9. Dispensare **100 µL** di Soluzione Stoppante a ciascun pozzetto.
10. Incubare per **5 min** a temperatura ambiente (20 °C - 28 °C).
11. **Leggere** la Densità Ottica a 450 nm (riferimento 600-690 nm) e calcolare il risultato.  
Il colore è stabile per almeno 30 min. Leggere in questo periodo di tempo.

Esempio di un sistema di dispensazione:

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>A</b>	A	P1	P1+R									
<b>B</b>	B	P2	P2+R									
<b>C</b>	C	P3	P3+R									
<b>D</b>	D	P4	P4+R									
<b>E</b>	E	P5	P5+R									
<b>F</b>	F	P6	P6+R									
<b>G</b>	C+	P7	P7+R									
<b>H</b>	C-	P8	P8+R									

P1, ... Campioni, P1+R ..... Campioni + Recovery, A-F Calibratore, C+, C- Controllo

### 11.1 Ripristino di prova (RECOVERY Test)

La presenza di autoanticorpi anti-tireoglobulina (anti-TG) può interferire con la determinazione della tireoglobulina umana (HTG) in campioni di pazienti: anti-TG possibile allegare ad epitopi di molecole HTG e quindi causare risultati falsi negativi nella determinazione del hTg. Pertanto, è necessario dimostrare la presenza di autoanticorpi anti-TG nei campioni dei pazienti. Questo può essere fatto mediante misurazione diretta quantitativa con un anti-TG test (ad es EIA-3561) o indirettamente da esperimenti di recupero in combinazione con la determinazione quantitativa tireoglobulina.

In questo dosaggio della tireoglobulina la prova di recupero è incluso:

Un campione del paziente è determinata due volte, privi di emoglobina e addizionati con HTG esogena chiamata RECOVERY, che contiene esattamente 50 ng/mL HTG. La prova di recupero, fornisce la prova per quanto riguarda la presenza di autoanticorpi anti-TG. Né il corretto anti-TG concentrazione né l'esatta concentrazione tireoglobulina in presenza di anti-TG può essere calcolato con questa misura.

## 12 CONVALIDA

Il test è valido è valido solo se le densità ottiche a 450 nm dei calibratori / controlli ed i risultati di lettura per i controlli cadono nei limiti indicati sul certificato di analisi allegato a ciascun kit.

Se tutti questi criteri non sono riscontrati, i risultati devono essere considerati non validi e il test deve essere ripetuto.

### 13 CALCOLO DEI RISULTATI

Per ottenere risultati quantitativi riportare la densità ottica di ciascun calibratore rispetto alla concentrazione del calibratore per costruire una curva di calibrazione. La concentrazione dei campioni da analizzare è determinata tramite la curva di calibrazione così estrapolata.

Software per l'elaborazione dei dati con i 4 parametri curva e lin-log per densità ottica e la concentrazione è il metodo migliore.

Il recupero percentuale è calcolata:

$$\% \text{ Recupero} = (\text{ng/mL HTG spillo}/\text{ng/mL HTG non-spillo} + 50 \text{ ng/mL}) \times 100$$

Recupero deve essere prevista nell'intervallo di 80 - 120%.

Se la percentuale di recupero tireoglobulina è inferiore o superiore di questo intervallo, i valori di tireoglobulina per il campione del paziente rispettivi dovrebbero essere esclusi per un'ulteriore valutazione.

### 14 CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO

#### 14.1 Calibrazione

Il sistema di dosaggio è calibrato contro la preparazione di riferimento internazionale CRM 457 from BCR, Brussels human Thyroglobulin.

#### 14.2 Campo di misura

Il campo di misura è pari a 0 - 300 ng/mL

#### 14.3 Valori normali

Nell'ambito di uno studio sul campo di riferimento con campioni di donatori di sangue sani sono stati rilevati i seguenti valori:

valore limite: 2 - 50 ng/mL

#### 14.4 Interpretazione dei risultati

Secondo la letteratura i valori di cut-off per la tireoglobulina sierica di circa 60 ng/mL, con una media da 5 a 10 ng/mL.

In neonati così come nella donna incinta di 3° trimestre più elevate concentrazioni di tireoglobulina può essere rilevato.

Per l'interpretazione comprehensive delle concentrazioni di tireoglobulina conoscenza di approvvigionamento alimentare di iodio è indispensabile. Nelle regioni endemiche valori hTg gozzo tendono ad essere più elevato. Nei pazienti con tiroidectomia totale non rilevabile tireoglobulina dovrebbe essere presente, dopo una terapia X-ray. Ogni aumento di tireoglobulina per rilevabili concentrazioni sieriche è indicativa per recidiva in metastasi tireoglobulina produzione.

#### 14.5 Linearità

Campioni di pazienti con un'elevata concentrazione dei tireoglobulina sono stati sottoposti a diluizione lineare nel tampone per stabilire il campo dinamico dell'analisi nonché l'estremità inferiore e superiore della linearità. L'attività degli anticorpi di ogni stadio di diluizione è stata calcolata dalla curva di calibrazione con un 4 parametri con assi lin-log coordinate.

Campione	Diluizione	Osservato [ng/mL]	Previsto [ng/mL]	O/P [%]
1	1:1	268,0	268,0	100
	1:2	141,0	134,0	105
	1:4	65,0	67,0	97
	1:8	31,0	34,0	91
2	1:1	207,0	207,0	100
	1:2	101,0	104,0	97
	1:4	50,0	52,0	96
	1:8	24,0	26,0	92

#### 14.6 Limite di determinazione

Sensibilità funzionale: 1 ng/mL

## 14.7 Riproducibilità

### Precisione intra-assay:

il coefficiente di variazione (CV) è stato calcolato per tre campioni ognuno con 24 definizioni in un ciclo. I risultati della precisione nella serie sono riassunti nella tabella.

### Precisione intra-assay:

il coefficiente di variazione (CV) è stato calcolato per tre campioni rispettivamente da 6 definizioni in 5 cicli. I risultati della precisione da ciclo a ciclo sono riassunti nella tabella.

Intra-test		
Campione	Mezzo [ng/mL]	CV [%]
1	33,0	1,9
2	93,0	2,4
3	227,0	3,2

Inter-test		
Campione	Mezzo [ng/mL]	CV [%]
1	31,0	1,7
2	88,0	1,7
3	212,0	1,1

## 14.8 Interferisce

Non si ha osservato nessuna interferenza con emolitico (fino a 1000 mg/dL), lipoideo (fino a 3 g/dL di trigliceridi) o bilirubina (fino a 40 mg/dL) contenenti siero.

Nessuna osservato effetto di interferencia con anticoagulanti (EDTA, eparina, citrato).

## 15 LIMITI DEL PROCEDIMENTO

Questo test è una ausilio diagnostico. La diagnosi clinica definitiva non dovrebbe basarsi sui risultati di un singolo test, ma dovrebbe essere fatta dal medico, dopo tutto i risultati clinici e di laboratorio sono state valutate concernente l'intero quadro clinico del paziente. Inoltre, ogni decisione per la terapia dovrebbe essere presa individualmente.

Gli intervalli di riferimento sopra patologiche e normale per gli anticorpi nei campioni dei pazienti devono essere considerati come raccomandazioni solo. Ogni laboratorio deve stabilire i propri range secondo la ISO 15189 o ad altre linee guida del laboratorio applicabili.

## 1 FINALIDAD PREVISTA

Thyroglobulin ELISA es una inmunoensayo enzimático para la medición cuantitativa la tiroglobulina en muestras de suero humano o plasma.

Este producto se ha concebido exclusivamente para su uso profesional en el diagnóstico in vitro.

En pacientes con cambios patológicos en la glándula tiroidea, p. ej. hipertiroidismo, tiroiditis, cáncer de tiroides se encuentran concentraciones elevadas de tiroglobulina. La tiroglobulina en ELISA se usa principalmente para la monitorización postoperatoria de los pacientes con un cáncer de tiroides diferenciado.

## 2 METODOLOGÍA

Los pocillos de la microplaca están recubiertos con anticuerpos anti-humana-tiroglobulina.

La determinación se basa en una reacción inmunológica indirecta ligada a enzimas con los pasos siguientes:

tiroglobulina presentes en muestras positivas se ligan al anticuerpo revestido en la superficie de los pocillos de microplaca formando un complejo antígeno-anticuerpo. Tras la incubación, un primer paso de lavado elimina las moléculas no ligadas y las moléculas ligadas no específicas. El conjugado de enzima anti-tiroglobulina añadido a continuación se liga al complejo anticuerpo-antígeno inmovilizado. Tras la incubación, un segundo paso de lavado elimina el conjugado de enzimas no ligado. La adición de la solución de sustrato de enzimas tiene como resultado la hidrólisis y el desarrollo del color durante la incubación. La adición de un ácido detiene la reacción de formación de un color amarillo del producto final.

La intensidad del color amarillo guarda relación con la concentración del complejo anticuerpo-antígeno y puede medirse fotométricamente a 450 nm.

En este ensayo de tiroglobulina una prueba de recuperación se incluye.

## 3 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Todos los reactivos de este kit son para su uso profesional para el diagnóstico in vitro.
- Se han analizado todos los componentes que contienen suero humano y el resultado ha sido negativo para los métodos autorizados de HBsAg, VHC, VIH1 o VIH2. Sin embargo, las pruebas no pueden garantizar la ausencia de HBsAg, VHC, VIH1 o VIH2, por lo que todos los reactivos basados en suero humano en este juego se deben manejar como si fuesen contagiosos.
- Se le ha realizado la prueba de EEB a la albúmina de suero bovino (ASB) usada en los componentes y el resultado ha sido negativo.
- Evite el contacto con el sustrato TMB (3,3',5,5'-tetrametilbencidina).
- Solución de paro contiene ácido, cuya clasificación es de no peligrosa. Evite el contacto con la piel.
- Los tampones de control, de muestra y de lavado contienen 0.09% de ácido de sodio como conservante. Esta concentración está clasificada como no peligrosa.
- Las enzimas conjugadas contienen 0.05% Proclin como conservante. Esta concentración está clasificada como no peligrosa.

Durante el tratamiento de todos los reactivos, de los controles y de las muestras de suero cumpla con la regulación vigente en materia de seguridad en el laboratorio y con las buenas prácticas de laboratorio:

- Medidas de primeros auxilios: en caso de contacto con la piel, lave cuidadosamente la zona con agua y jabón.
- Quítese la ropa y el calzado contaminado y lávelos antes de volverlos a utilizar. Si la piel entra en contacto con los fluidos del sistema, lave la zona cuidadosamente con agua. En caso de contacto con los ojos, aclare con cuidado el ojo abierto con agua corriente durante al menos 10 minutos. En el caso de que sea necesario, consulte a un médico.
- Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de urgencia:
- Siga las regulaciones en materia de seguridad en el laboratorio. Evite el contacto con la piel y los ojos. No ingiera el producto. No pipetee nunca con la boca. No coma, beba, fume ni se aplique maquillaje en las zonas en las que se trabaja con las muestras o con los reactivos del juego. En el caso de derrame, absorba el producto con un material inerte y elimine el producto derramado como corresponda.
- Controles de exposición/ protección personal: utilice guantes de protección de caucho de nitrilo o de látex natural. Use gafas de protección. No se conocen reacciones peligrosas si se usa conforme a su fin.
- Condiciones que se deben evitar: la solución de sustrato es sensible a la luz, se deben almacenar en un lugar oscuro.
- Siga la normativa nacional o regional para eliminar los desechos del laboratorio.

Siga las directrices en materia de realización de controles de calidad en laboratorios médicos mediante controles de ensayo.

#### 4 CONTENIDO DEL KIT

Símbolos		Válido para 96 determinaciones
<b>MICROPLATE</b>	1	<b>Micoplaca</b> fraccionable compuesta por 12 tiras de 8 pocillos cada una. Listo para el uso
<b>CALIBRATOR A</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrador A, 0 ng/mL</b> , contiene una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0.09%), amarillo. Listo para el uso.
<b>CALIBRATOR B</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrador B, 3 ng/mL</b> , contiene tiroglobulina en una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0.09%), amarillo. Listo para el uso.
<b>CALIBRATOR C</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrador C, 10 ng/mL</b> , contiene tiroglobulina en una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0.09%), amarillo. Listo para el uso.
<b>CALIBRATOR D</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrador D, 30 ng/mL</b> , contiene tiroglobulina en una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0.09%), amarillo. Listo para el uso.
<b>CALIBRATOR E</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrador E, 100 ng/mL</b> , contiene tiroglobulina en una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0.09%), amarillo. Listo para el uso.
<b>CALIBRATOR F</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrador F, 300 ng/mL</b> , contiene tiroglobulina en una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0.09%), amarillo. Listo para el uso.
<b>CONTROL +</b>	1x 1,5 mL	<b>Control positiva</b> , contiene tiroglobulina en una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0.09%), amarillo. Listo para el uso. Concentraciones especificadas en certificado de análisis.
<b>CONTROL -</b>	1x 1,5 mL	<b>Control negativa</b> , contiene tiroglobulina en una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, NaN <sub>3</sub> 0.09%), amarillo. Listo para el uso. Concentraciones especificadas en certificado de análisis
<b>RECOVERY</b>	1x 3 mL	<b>Recuperación</b> , 50 ng/mL; contiene thyroglobulin en una matriz sérica tamponada (PBS, BSA, detergente, conservante NaN <sub>3</sub> 0.09%). Listo para el uso.
<b>DILUENT</b>	20 mL	<b>Tampón de muestra STP</b> , contiene PBS, BSA, detergente, conservante NaN <sub>3</sub> 0.09%, amarillo, Listo para el uso.
<b>CONJUGATE</b>	15 mL	<b>Conjugado</b> ; contiene anticuerpos contra la <b>tiroglobulina</b> humanas, marcados con HRP; PBS, BSA, detergente, conservante Proclin 0.05%, rojo claro. Listo para el uso.
<b>TMB</b>	15 mL	<b>TMB solución de substrato</b> ; contiene 3,3',5,5'-tetrametilbencidina, incoloro. Listo para el uso.
<b>STOP</b>	15 mL	<b>Solución de paro</b> ; contiene ácido. Listo para el uso.
<b>WASH</b>	20 mL	<b>Solución de lavado</b> ; contiene Tris, detergente, conservante NaN <sub>3</sub> 0.09%; 50x concentrado.
	1	Instrucciones de uso
	1	Certificado de Análisis

#### 5 EQUIPOS REQUERIDOS DE LABORATORIO

- Lector de microplacas capaz de leer a punto final a 450 nm; opcional: referencia 620 nm
- Software para cálculo de resultados
- Pipeta multicanal, o de repetición para 100 µL
- Mezclador Vortex
- Micropipetas con jeringas de un solo uso para 50 µL, 100 µL, 1000 µL
- Reloj de laboratorio
- Agua destilada o desionizada
- Probeta graduada para 1000 mL, 100 mL
- Contenedor de plástico para la solución de lavado diluida

#### Automatización:

Este ensayo ELISA puede ser utilizado en procesadores automáticos abiertos ELISA. La aplicación tiene que ser validado en el sistema automatizado correspondiente. La información se proporciona bajo petición.

## 6 RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACION

- Las muestras de sangre se deben obtener en base a las directivas y regulaciones de vigencia actual.
- Dejar coagular la sangre y obtener el suero mediante centrifugación.
- Se debe prevenir la utilización de sueros hemolíticos, lipémicos e ictéricos.
- Las muestras de suero y plasma pueden conservarse durante un período máximo de 5 días con refrigeración y temperaturas entre 2 °C a 8 °C. En caso de requerir una conservación más larga, se deben alicuotar las muestras y congelarse con una temperatura de -20 °C.
- Se ha de prevenir la repetida congelación y descongelación! Esto puede provocar una pérdida variable de actividad de los autoanticuerpos o anticuerpos.
- No se recomienda la utilización de sueros desactivados frente al calor.

## 7 CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

- Almacene el kit a 2 °C - 8 °C en un lugar oscuro.
- No exponga los reactivos al calor, al sol o a una luz intensa durante su almacenamiento o uso.
- Almacene la microplaca sellada en la bolsa con pinza suministrada con un secante.
- El tiempo de conservación de los kits sin abrir es de 18 meses desde la fecha de fabricación. Los reactivos sin abrir se mantienen estables hasta la fecha de caducidad del kit. Consulte las etiquetas de cada lote individual.
- Los tampones de lavado diluidos y tampón de muestra se mantienen estables durante al menos 30 días si se almacenan a 2 °C - 8 °C. Recomendamos que se use en el mismo día.

## 8 NOTAS TECNICAS

- No usar los componentes del kit después de la fecha de caducidad.
- No intercambiar componentes de diferentes lotes y productos.
- Todos los componentes deben ser acondicionados a temperatura ambiente antes de su uso (20 °C - 28 °C).
- Preparar todos los reactivos y muestras antes de empezar el ensayo. Una vez iniciado es test debe realizarse sin interrupción.
- Determinaciones dobles puede realizarse. Por este medio los errores de pipeteo puede llegar a ser evidentes.
- Procesar todos los pasos del test en el orden indicado.
- Utilizar siempre las diluciones de muestra recién preparadas.
- Pipetear los reactivos y muestras en el fondo del pocillo.
- Para eliminar arrastre, cambiar las puntas de pipeta entre las muestras y los controles.
- Es importante lavar exaustivamente los pocillos y eliminar las últimas gotas de tampón de lavado.
- Los tiempos de incubación deben controlarse cuidadosamente.
- Nunca deben reutilizarse los pocillos.

## 9 PREPARACIÓN DE REACTIVOS

### **Solución de lavado (WASH)**

El contenido de cada botella del concentrado de solución de lavado (50x) debe diluirse mediante adición de agua destilada para obtener un volumen final de 1000 mL (1 litro).

### **Tampón de muestra STP (DILUENT)**

Listo para el uso.

## 10 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Use muestras de pacientes sin diluir.

**Guarda:** Los calibradores / controles se presentan listos para su uso y no deben ser diluidos.

## 11 PROCEDIMIENTO

Preparar el número de tiras de la microplaca suficiente para disponer los calibradores, controles y muestras prediluidas.

1. Pipetear 50 µL de calibradores, controles y muestras de pacientes en los pocillos..  
Los calibradores y controles: añadir 50 µL tampón de muestra  
Las muestras: añadir 50 µL buffer de muestras (no enriquecida) / añadir 50 µL RECOVERY (enriquecida)
2. Incubar durante **60 minutos** a temperatura ambiente (20 °C - 28 °C)
3. Vaciar los pocillos y lavar **3 veces con 300 µL** de solución de lavado.
4. Dispensar **100 µL** de conjugado en cada pocillo
5. Incubar durante **60 minutos** a temperatura ambiente (20 °C - 28 °C)
6. Vaciar los pocillos y lavar **3 veces con 300 µL** de solución de lavado.
7. Dispensar **100 µL** de substrato TMB en cada pocillo
8. Incubar durante **15 minutos** a temperatura ambiente (20 °C - 28 °C)
9. Añadir **100 µL** de solución de paro a todos los pocillos
10. Incubar durante **5 minutos** a temperatura ambiente
11. Leer la densidad óptica a 450 nm (referencia 600-690 nm) y calcular los resultados.  
 El color desarrollado en la reacción es estable durante 30 minutos. Leer durante este periodo.

Ejemplo de un esquema de pipeteo:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	P1	P1+R									
B	B	P2	P2+R									
C	C	P3	P3+R									
D	D	P4	P4+R									
E	E	P5	P5+R									
F	F	P6	P6+R									
G	C+	P7	P7+R									
H	C-	P8	P8+R									

P1, ... Muestras (no enriquecida), P1+R, ... Muestras + RECOVERY, A-F Calibrador , C+, C- Control

### 11.1 Prueba de recuperación (RECOVERY Test)

La presencia de autoanticuerpos contra la tiroglobulina (anti-TG) puede interferir con la determinación de la tiroglobulina humana (HTG) en muestras de pacientes: el anti-TG se puede unir a los epítopos de las moléculas de HTG y por lo tanto provocar resultados falsos negativos en la determinación de HTG. Por lo tanto, es necesario probar la presencia de anticuerpos anti-TG autoanticuerpos en muestras de pacientes. Esto puede hacerse bien por medición cuantitativa directa con una prueba anti-TG (por ejemplo EIA-3561) o indirectamente por medio de experimentos de recuperación en combinación con la determinación cuantitativa tiroglobulina.

En este ensayo de tiroglobulina una prueba de recuperación se incluye:

Una muestra del paciente se determina en dos ocasiones, sin marcar y se enriquece con HTG exógenas llama RECOVERY, que contiene exactamente 50 ng/mL HTG. La prueba de recuperación proporciona pruebas de la presencia de autoanticuerpos anti-Tg. Ni el correcto anti-TG concentración ni la concentración de tiroglobulina exacta en presencia de anticuerpos anti-TG se puede calcular con esta medida.

## 12 VALIDACIÓN

El test se considera válido siempre que la densidad óptica a 450 nm del calibradores y controles y los resultados de los controles se ajuste al rango respectivo indicado en el certificado de análisis incluido en cada kit.

Si no se cumple alguno de los criterios los resultados no se consideran válidos y el ensayo debe repetirse.

## 13 CÁLCULO DE RESULTADOS

Para obtener resultados cuantitativos parcela la densidad óptica de cada calibrador frente a la concentración del calibrador para crear una curva de calibración. La concentración de las muestras de pacientes se obtendrá por interpolación en la gráfica así obtenida.

Uso de software de reducción de datos de un 4-parámetros-Fit con coordenadas lin-log de la densidad óptica y la concentración es el método de reducción de datos de la elección.

El porcentaje de recuperación se calcula:

$$\% \text{ De recuperación} = (\text{ng/mL HTG púas}/\text{ng/mL HTG sin marcar} + 50 \text{ ng/mL}) \times 100$$

La recuperación se debe esperar en el intervalo de 80-120%.

Si el porcentaje de recuperación de tiroglobulina está por debajo o por encima de este rango, los valores de tiroglobulina para la muestra del paciente respectivos deben ser excluidos para una evaluación adicional.

## 14 LOS CARACTERISTICAS DE FUNCIONAMIENTO

### 14.1 Calibrado

El sistema de ensayo está calibrado frente a la preparación de referencia internacional CRM 457 from BCR, Brussels para human Thyroglobulin.

### 14.2 Rango de medición

El intervalo de cálculo de este ensayo ELISA es 0 - 300 ng/mL

### 14.3 Valores previstos

En un estudio habitual del intervalo con muestras de suero de donantes de sangre sanos se han establecido los siguientes intervalos con el ensayo ELISA:

valor límite: 2 - 50 ng/mL

### 14.4 Interpretación de los resultados

De acuerdo con la literatura valores de corte para tiroglobulina sérica de alrededor de 60 ng/mL, con una media de 5 a 10 ng/mL. En los recién nacidos, así como en la mujer embarazada de las concentraciones más altas 3er trimestre de tiroglobulina puede ser detectado. Para la interpretación de las concentraciones de tiroglobulina compehensive el conocimiento de la oferta alimentaria de yodo es indispensable. En las regiones endémicas con los valores de hTG bocio tienden a ser mayores. En los pacientes con tiroidectomía total no tiroglobulina detectable debe estar presente después de una terapia de rayos X. Cada aumento de la tiroglobulina detectable a las concentraciones séricas es indicativo de recidiva en las metástasis producir tiroglobulina.

### 14.5 Linealidad

Se diluyeron en serie muestras de pacientes con niveles altos de tiroglobulina en un tampón de muestra para demostrar el intervalo dinámico del ensayo en el límite superior/ inferior de linealidad. Se calculó la actividad para cada dilución a partir de la curva de calibración con un 4-parámetros-Fit con el lin-log coordina.

Muestra	Dilución	Observado [ng/mL]	Esperado [ng/mL]	O/E [%]
1	1:1	268,0	268,0	100
	1:2	141,0	134,0	105
	1:4	65,0	67,0	97
	1:8	31,0	34,0	91
2	1:1	207,0	207,0	100
	1:2	101,0	104,0	97
	1:4	50,0	52,0	96
	1:8	24,0	26,0	92

### 14.6 Límite de detección

Sensibilidad funcional: 1 ng/mL

#### 14.7 Reproducibilidad

##### Precisión intranalítica:

se calculó el coeficiente de variación (CV) de cada una de las tres (3) muestras a partir de los resultados de 24 análisis en una única serie. En la tabla siguiente se muestran los resultados para la precisión intranalítica.

##### Precisión entre ensayos:

se calculó el coeficiente de variación (CV) de cada una de las tres muestras a partir de los resultados de seis (6) análisis en cinco (5) series diferentes. Los resultados para las precisiones de serie en serie se muestran en la siguiente tabla.

Intra-Ensayo		
Muestra	Medio [ng/mL]	CV [%]
1	33,0	1,9
2	93,0	2,4
3	227,0	3,2

Inter-Ensayo		
Muestra	Medio [ng/mL]	CV [%]
1	31,0	1,7
2	88,0	1,7
3	212,0	1,1

#### 14.8 Interferencias

No se ha observado ninguna interferencia con sueros o plasmas hemolíticos (hasta 1000 mg/dL), lipémicos (hasta 3 g/dL triglicéridos) o ictéricos (hasta 40 mg/dL).

Ni se han observado efectos de interferencia con anticoagulantes (EDTA, heparina, citrato).

Sin embargo, por razones prácticas, se recomienda evitar muestras altamente hemolizadas o lipemizadas.

#### 15 LÍMITE DEL PROCEDIMIENTO

Este ensayo es una ayuda diagnóstica. El diagnóstico clínico definitivo no debe basarse en los resultados de una prueba, sino que debe ser realizada por el médico después de todo, los hallazgos clínicos y de laboratorio han sido evaluados respecto a la imagen completa clínica del paciente. También todas las decisiones de tratamiento deben tenerse en cuenta individualmente.

Los rangos de referencia anteriores, deberían considerarse únicamente como guía. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales y patológicos de anticuerpos en muestras de pacientes.

## 1 DESTINATION

Thyroglobulin ELISA est un système de test ELISA pour la détermination quantitative de la thyroglobuline présents dans le sérum ou le plasma humain.

Ce produit est destiné à être utilisé exclusivement par du personnel qualifié dans le cadre d'un diagnostic in vitro.

Des niveaux élevés de thyroglobuline se retrouvent chez les patients présentant des modifications pathologiques de la glande thyroïdienne, par exemple hyperthyroïdie, thyroïdite, carcinome thyroïdien. La thyroglobuline ELISA est principalement utilisée pour le contrôle post-opératoire des patients souffrant de carcinome thyroïdien différencié.

## 2 METHODOLOGIE

Microplaques: revêtues très spécifiques anti-humain-thyroglobuline anticorps.

La réaction est basée sur le principe de l'ELISA indirect, avec les étapes suivantes:

thyroglobuline contenus dans l'échantillon à tester se lient aux surfaces recouvertes d'anticorps dans les puits de microplaques formant un complexe antigènes-anticorps. Après l'incubation, une première étape de nettoyage élimine les molécules non liées et les molécules liées non spécifiques. Le anti-thyroglobuline conjuguat d'enzyme fourni ajouté par la suite se lie aux complexes antigènes-anticorps qui se forment. Après l'incubation, une seconde étape de nettoyage élimine le conjuguat superflu. L'ajout de solution de substrat d'enzyme entraîne l'hydrolyse et le développement des couleurs pendant l'incubation. L'addition d'un acide arrête la réaction formant une couleur jaune produit final.

L'intensité de la couleur jaune varie en fonction de la concentration des complexes antigènes-anticorps et est mesurée à 450 nm par un module optique.

Dans ce dosage de la thyroglobuline un test de récupération est inclus.

## 3 PRECAUTIONS D'USAGE

- Tous les réactifs de ce système de test sont conçus pour être utilisés exclusivement par du personnel qualifié dans le cadre du diagnostic in vitro.
- Les composants qui contiennent du sérum humain sont testés pour le HBsAg, HCV, HIV1 et HIV2 à l'aide des méthodes définies par la FDA et les résultats sont négatifs. Etant donné qu'aucun test ne peut garantir l'absence de HBsAg, HCV, HIV1 et HIV2, nous recommandons de manipuler tous les composants du kit contenant du sérum comme s'ils étaient potentiellement infectieux.
- L'albumine de sérum bovin (BSA), contenue dans des composants, est testée pour l'ESB et les résultats sont négatifs.
- Eviter tout contact avec le substrat d'enzyme TMB (3,3',5,5'-Tétraméthylbenzidine).
- Solution d'arrêt contiennent des acides. Leur concentration n'est pas dangereuse. Eviter tout contact avec la peau.
- Le contrôle, le diluant d'échantillon et la solution de nettoyage contiennent 0.09 % d'acide de sodium comme conservateur. Sa concentration n'est pas dangereuse.
- Le conjuguat d'enzyme contient 0.05 % de ProClin 300 comme conservateur. Sa concentration n'est pas dangereuse.

Lors de la manipulation des réactifs, des contrôles et des échantillons patient, les directives de sécurité en application dans le laboratoire et les bonnes pratiques de laboratoire doivent être respectées :

- Mesures de premiers secours :  
En cas de contact avec la peau, laver immédiatement et abondamment à l'eau et au savon. Retirer les vêtements et les chaussures contaminés et les nettoyer avant de les porter. En cas de contact du liquide du système avec la peau, laver abondamment à l'eau. En cas de projection dans les yeux, rincer les yeux grands ouverts sous l'eau courante pendant au moins 10 minutes. En cas de besoin, consulter un médecin.
- Mesures en cas de déversement de liquide accidentel :  
respecter les directives de sécurité des bonnes pratiques de laboratoire. Eviter tout contact avec la peau et les yeux. Ne pas avaler. Ne pas pipetter avec la bouche. Ne pas manger, boire, fumer ou se maquiller dans des zones de manipulation des échantillons ou des composants du produit. Absorber avec un matériel inert et mettre au rebut de manière appropriée.
- Equipement de protection personnel :  
porter des gants de protection en nitrile ou en latex. Porter des lunettes de protection. Dans le cadre d'une utilisation appropriée, aucun réactif n'est dangereux.
- Conditions spéciales :  
étant donné que le substrat TMB est photosensible, conserver dans un endroit à l'abri de la lumière.
- Les déchets doivent être mis au rebut conformément aux réglementations nationales et locales sur la protection de l'environnement.

Il convient de respecter les directives de contrôle qualité des laboratoires médicaux en matière de manipulation de sérum de contrôle.

#### 4 CONTENU DU COFFRET

Symboles		Suffisant pour 96 déterminations
<b>MICROPLATE</b>	1	Microplaqué sécable composée de 12 barrettes de 8 puits. Prêt à l'emploi.
<b>CALIBRATOR A</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrateur A, 0 ng/mL</b> , dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi.
<b>CALIBRATOR B</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrateur B, 3 ng/mL</b> , avec thyroglobuline dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi.
<b>CALIBRATOR C</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrateur C, 10 ng/mL</b> , avec thyroglobuline dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi.
<b>CALIBRATOR D</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrateur D, 30 ng/mL</b> , avec thyroglobuline dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi.
<b>CALIBRATOR E</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrateur E, 100 ng/mL</b> , avec thyroglobuline dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi.
<b>CALIBRATOR F</b>	1x 1,5 mL	<b>Calibrateur F, 300 ng/mL</b> , avec thyroglobuline dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi.
<b>CONTROL +</b>	1x 1,5 mL	<b>Contrôle positif</b> , avec thyroglobuline dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi. La concentration est indiquée dans le certificat d'analyse.
<b>CONTROL -</b>	1x 1,5 mL	<b>Contrôle négatif</b> , avec thyroglobuline dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi. La concentration est indiquée dans le certificat d'analyse.
<b>RECOVERY</b>	1x 3 mL	<b>Récupération</b> , 50 ng/mL, avec thyroglobuline dans une matrice sérum/tampon (PBS, BSA, détergent, NaN <sub>3</sub> 0.09%). Prêt à l'emploi.
<b>DILUENT</b>	20 mL	<b>Diluant d'échantillon STP</b> , jaune; PBS, BSA, détergent ; 0,09 % NaN <sub>3</sub> comme conservateur, Prêt à l'emploi.
<b>CONJUGATE</b>	15 mL	<b>Conjugat d'enzyme</b> ; rouge clair; contient des anticorps anti-humains thyroglobuline avec marquage à la péroxydase, PBS, BSA, détergent; 0.05 % de Proclin comme conservateur. Prêt à l'emploi.
<b>TMB</b>	15 mL	<b>Solution de substrat TMB</b> ; contient 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine. Prêt à l'emploi.
<b>STOP</b>	15 mL	<b>Solution d'arrêt</b> , contient acide. Prêt à l'emploi.
<b>WASH</b>	20 mL	<b>Tampon de lavage</b> ; contient tampon Tris, détergent, 0.09 % comme conservateur, concentré (50 x).
	1	Instructions d'utilisation
	1	Certificat d'analyse

#### 5 MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Lecteur de microplaqué pouvant réaliser des mesures en point final à 450 nm; 620 nm de référence facultatif
- Logiciel d'exploitation des données
- Micropipettes avec des seringues à usage unique pour 10 µL, 100 µL, 1000 µL
- Agitateur Vortex
- Pipettes de 50 µL, 100 µL et 1000 µL
- Minuterie
- Eau distillée ou désionisée
- Eprouvette graduée de 100 et 1000 mL
- Récipient plastique pour le stockage de la solution de lavage

#### Automation

Ce test ELISA peut être utilisé sur les processeurs ELISA ouverts automatisés. La demande doit être validée sur le système automatisé respective. L'information est fournie sur demande.

## 6 OBTENTION, STOCKAGE ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

- Les prélèvements de sang doivent être effectués conformément aux directives et aux procédés en vigueur.
- Laisser coaguler le sang et extraire le sérum par centrifugation.
- L'utilisation de sérum hémolytisés, lipémiques et ictériques doit être évitée.
- Les prélèvements de sérum et de plasma peuvent être conservés jusqu'à 5 jours au frais à une température entre 2 °C - 8 °C. Si un stockage prolongé est envisagé, les prélèvements devraient être aliquotés et congelés à une température de -20 °C.
- Eviter des décongélation et des congélations répétées! Ceci peut avoir pour résultat une perte variable d'activité des auto-anticorps ou des anticorps.
- L'utilisation de sérum inactivé par la chaleur n'est pas recommandée.

## 7 STOCKAGE ET STABILITE

- Stockage du kit de test entre 2 °C - 8 °C à l'abri de la lumière.
- Ne pas exposer les réactifs à la chaleur, au soleil ou à une lumière forte pendant leur stockage et leur utilisation.
- Conserver microplaques dans le sachet refermable fourni avec le dessicatif.
- Le produit peut être conservé pendant 18 mois à partir du jour de sa production s'il n'est pas ouvert. Les réactifs qui ne sont pas ouverts restent stables jusqu'à la date d'expiration du produit. Se reporter à l'étiquette de chaque lot.
- La solution de nettoyage et le diluant d'échantillon dilués restent stables pendant au moins 30 jours, entre 2 °C - 8 °C. Nous recommandons d'utiliser en une journée.

## 8 RECOMMANDATIONS

- Le kit d'analyse ne peut pas être utilisé après la date de péremption.
- Ne pas mélanger les réactifs provenant de trousse de lots différents et produits.
- Utiliser les réactifs à température ambiante (20 °C - 28 °C).
- Préparer les échantillons et les réactifs. Une fois le test est commencé, réalisée sans interruption.
- Double déterminations peut être fait. Par ce moyen erreurs de pipetage peut devenir évident
- Respecter strictement l'ordre des étapes.
- Toujours utiliser des dilutions d'échantillons fraîchement préparées.
- Pipeter tous les réactifs et échantillons dans le fond des puits.
- Pour éviter les contaminations croisées, changer d'embout entre chaque échantillon, contrôle, calibrateur.
- Laver soigneusement micropuits et enlever les gouttelettes derniers de tampon de lavage.
- Toutes les étapes d'incubation doivent être minutées précisément.
- Ne pas réutiliser les puits d'une microplaques.

## 9 PREPARATION DES REACTIFS

### *Tampon de lavage (WASH)*

Le contenu de chaque bouteille de concentré de solution tampon de lavage (20 mL) doit être dilué - avant l'utilisation - par l'ajout d'eau distillée jusqu'à un volume final de 1000 mL (1 litre).

### *Diluant d'échantillon STP (DILUENT)*

Prêt à l'emploi.

## 10 ECHANTILLONS PATIENT

Utiliser l'échantillon de patient non dilué.

**Renseignement :** Les contrôles et calibrateurs sont prêts à l'emploi et ne nécessitent pas de dilution.

## 11 MODE OPERATOIRE

Préparer un nombre de barrettes suffisant pour tous les contrôles et échantillons dilués.

1. Distribuer 50 µL de calibrateurs, de contrôles et d'échantillons de patients dans les puits.  
Les calibrateurs et les contrôles: ajouter **50 µL** de diluant d'échantillon  
Les échantillons: ajouter **50 µL** de diluant d'échantillon (non dopés) /  
ajouter **50 µL RECOVERY** (dopés)
2. Incuber pendant **60 minutes** à température ambiante (20 °C - 28 °C)
3. Aspirer le contenu des puits et **laver 3 fois** avec **300 µL** de solution de lavage.
4. Distribuer **100 µL** de conjugué dans chaque puits.
5. Incuber pendant **60 minutes** à température ambiante.
6. Aspirer le contenu des puits et **laver 3 fois** avec **300 µL** de solution de lavage.
7. Distribuer **100 µL** de TMB dans chaque puits.
8. Incuber pendant **15 minutes** à température ambiante.
9. Ajouter **100 µL** de solution d'arrêt dans chaque puits
10. Incuber **5 minutes** à température ambiante.
11. Lire la densité optique à 450 nm (référence 600-690 nm) et calculer les résultats.  
La couleur obtenue est stable pendant au moins 30 minutes. Lire pendant ce laps de temps.

Exemple pour un schéma de pipetage:

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>A</b>	A	P1	P1+R									
<b>B</b>	B	P2	P2+R									
<b>C</b>	C	P3	P3+R									
<b>D</b>	D	P4	P4+R									
<b>E</b>	E	P5	P5+R									
<b>F</b>	F	P6	P6+R									
<b>G</b>	C+	P7	P7+R									
<b>H</b>	C-	P8	P8+R									

P1, ... Échantillons (non dopés), P1+R, ... Échantillons+ **RECOVERY**, A-F Calibrateur, C+, C- Contrôles

### 11.1 Test de récupération (RECOVERY Test)

La présence d'autoanticorps contre la thyroglobuline (anti-TG) peut interférer avec la détermination de la thyroglobuline humaine (HTG) dans des échantillons de patients: anti-TG peut se rattacher à des épitopes de molécules HTG et ainsi provoquer des résultats faussement négatifs dans la détermination de HTG. Par conséquent, il est nécessaire de prouver la présence d'anticorps anti-TG auto-anticorps dans les échantillons des patients. Cela peut être fait soit par une mesure quantitative directe avec un test anti-TG (par exemple EIA-3561) ou indirectement par des expériences de récupération en combinaison avec la détermination quantitative thyroglobuline.

Dans ce dosage de la thyroglobuline un test de récupération est inclus:

Un échantillon du patient est déterminé deux fois, sans crampons et dopé HTG exogène appelé RECOVERY qui contient exactement 50 ng/mL HTG. Le test de récupération fournit une preuve quant à la présence d'autoanticorps anti-TG. Ni la concentration de thyroglobuline exacte présence d'anticorps anti-TG peut être calculé avec cette mesure.

## 12 VALIDATION

Le test est validé uniquement si la densité optique à 450 nm pour contrôles et étalons et les résultats en lecture pour les contrôles conformer à des valeurs de référence indiquée sur le certificat d'analyse inclus dans chaque kit de test.

Si ces critères de contrôle de qualité ne sont pas respectées la série de tests est invalide et doit être répété.

## 13 CALCUL DES RESULTATS

Pour obtenir des données quantitatives porter les densités optiques moyennes de chaque calibrateur en fonction de la concentration. La concentration des échantillons de spécimens peuvent alors être estimée à partir de la courbe d'étalonnage par interpolation.

Logiciel de traitement de données avec ajustement de la courbe à 4 paramètres et lin-log coordonnées de la densité optique et la concentration est la meilleure méthode.

Le pourcentage de récupération est calculé:

$$\% \text{ récupération} = (\text{ng/mL hTG dopé} / (\text{ng/mL hTG non dopé} + 50 \text{ ng/mL}) \times 100$$

La récupération devrait être prévu dans la gamme de 80-120%.

Si le pourcentage de récupération thyroglobuline est inférieur ou supérieur de cette fourchette, les valeurs de thyroglobuline pour l'échantillon du patient concerné doit être exclu pour une évaluation plus poussée.

## 14 PERFORMANCES DE LA TROUSSE

### 14.1 Calibration

Le système de dosage est calibré par rapport à la préparation de référence internationale CRM 457 from BCR, Brussels pour human Thyroglobulin.

### 14.2 Gamme de mesure

La plage de mesure est de 0 - 300 ng/mL

### 14.3 Valeur normale

Dans le cadre d'une étude de la plage normale avec des échantillons de donneurs de sang sains, les valeurs suivantes ont été définies :

Valeur limite: 2 - 50 ng/mL

### 14.4 Interprétation des résultats

Selon la littérature des valeurs seuils pour la thyroglobuline sérique d'environ 60 ng/mL, avec une médiane de 5 à 10 ng/mL. Chez les bébés nouveau-nés ainsi que chez la femme enceinte des concentrations plus élevées durant le 3ème trimestre thyroglobuline peut être détectée. Pour l'interprétation des concentrations de thyroglobuline compréhensive connaissance de l'offre alimentaire en iodé est indispensable. Dans les régions endémiques avec les valeurs hTG goitre ont tendance à être plus élevé. Chez les patients atteints thyroïdectomie totale ne thyroglobuline détectable doit être présent après une thérapie X-ray. Toute augmentation de la thyroglobuline à des concentrations détectables de sérum est indicative pour récidive sur les métastases thyroglobuline production.

### 14.5 Linéarité

Échantillons patient présentant une concentration de thyroglobuline plus élevée sont dilués de manière linéaire dans la solution de dilution, pour représenter la zone dynamique de l'échantillon, ainsi que les limites inférieure et supérieure de la linéarité. L'activité des anticorps de chaque étape de dilution a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage en utilisant un 4-Parameter-Fit avec lin-log coordonne.

Echantillon	Dilution	Observé [ng/mL]	Escompté [ng/mL]	O/E [%]
1	1:1	268,0	268,0	100
	1:2	141,0	134,0	105
	1:4	65,0	67,0	97
	1:8	31,0	34,0	91
2	1:1	207,0	207,0	100
	1:2	101,0	104,0	97
	1:4	50,0	52,0	96
	1:8	24,0	26,0	92

### 14.6 Limite de détection

Sensibilité fonctionnal: 1 ng/mL

## 14.7 Données techniques

### Précision intra-test:

le coefficient de variation (CV) est calculé pour trois échantillons à partir de 24 réalisés en un seul dosage. Les résultats de la précision intra-test sont récapitulés dans le tableau.

### Précision inter-test:

le coefficient de variation (CV) est calculé pour trois échantillons à partir de 6 réalisées en 5 dosages. Les résultats de la précision inter-test sont récapitulés dans le tableau.

Intra-test		
Echantillon	Moyenne [ng/mL]	CV [%]
1	33,0	1,9
2	93,0	2,4
3	227,0	3,2

Inter-test		
Echantillon	Moyenne [ng/mL]	CV [%]
1	31,0	1,7
2	88,0	1,7
3	212,0	1,1

## 14.8 Interférences

Aucune interférence n'a été observée avec les sérum hémolytiques (max. 1000 mg/dL), lipémiques (max. 3 g/dL triglycérides) ou la bilirubine (max. 40 mg/dL).

De même aucune interférence avec les anticoagulants (l'EDTA, l'héparine, le citrate) n'a été constatée.

Cependant, pour des raisons pratiques, il est recommandé d'éviter l'utilisation d'échantillons hémolysés ou lipémiques.

## 15 LIMITES DU PROCEDE

Ce test est une aide au diagnostic. Un diagnostic clinique ne doit pas être basé sur le résultat d'un seul test, mais doit être fait par un médecin après évaluation de l'ensemble des résultats laboratoire et des éléments cliniques, tenant compte de toute la clinique du patient. De plus, chaque décision de traitement doit être prise individuellement.

Les plages de référence ci-dessus pathologiques et normaux d'anticorps dans les échantillons des patients doivent être considérés que comme des recommandations. Chaque laboratoire doit fondée ses propres gammes en fonction de la norme ISO 15189 ou d'autres lignes directrices applicables en laboratoire.

**16 REFERENCES / LITERATURE / RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI / BIBLIOGRAFÍA / RÉFÉRENCES**

1. Marriq, S. et al. Polypeptide chains of 19-S thyroglobulin from several mammalian species and of porcine 27-S iodoprotein. Eur. J. Biochem. 1977; 79: 143- 149.
2. Gärtner, D.F. et al. Evidence for autonomous thyroglobulin release from euthyroid and hyperthyroid nodular goiters - Thyroglobulin, a possible helpful parameter in diagnosis of non-malignant thyroid disorders. Klin. Wochenschr. 1983; 61: 737 - 741.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Czernichow, P. et al. Plasma thyroglobulin measurements help determine the type of thyroid defect in congenital hypothyroism. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1983; 56: 242 - 245.
8. Mariotti, S. et al. Low serum thyroglobulin as a clue to the diagnosis of thyrotoxicosis factitia. New Engl. J. Med. 1982; 307: 410 - 412.
9. Reiners, C. Klinische Wertigkeit der Thyreoglobulinbestimmung im Serum. Akt. Endokr. Stoffw. 1984; 5: 76 - 82.
10. Kastrup, J. et al. An enzyme linked immunosorbent assay for measurement of human serum thyroglobulin. Evaluation of the influence of thyroglobulin autoantibodies. Scand. J. Lab. Invest. 1985; 45: 471 - 476.
11. Feldt-Rasmussen, U. et al. Serum thyroglobulin (Tg) in presence of thyroglobulin autoantibodies (TgAb). Clinical and methodological relevance of the interaction between Tg and TgAb in vitro and in vivo. J. Endocrinol. Invest. 1985; 8: 571 - 576.
12. van Herle, A.J. and Uller, R.P Elevated serum thyroglobulin: a marker of metastases in differentiated thyroid carcinomas. J. Clin. Invest. 1975; 56: 272 -277.

## SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français	Português
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes	Conformidade Europeia
	Consult instructions for use *	Gebrauchsanweisung beachten *	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation	Consultar as instruções de uso
	In vitro diagnostic medical device *	In-vitro-Diagnostikum *	Diagnistica in vitro	Diagnóstico in vitro	Diagnostic in vitro	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Catalogue number *	Katalognummer *	No. di Cat.	No de catálogo	Référence	Número de catálogo
	Batch code *	Chargen-bezeichnung *	Lotto no	Número de lote	No. de lot	Código do lote
	Contains sufficient for <n> tests *	Ausreichend für <n> Prüfungen *	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> determinações
	Temperature limit *	Temperaturgrenzwerte *	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservacion	Temperature de conservation	Limites de temperatura
	Use-by date *	Verwendbar bis *	Data di scadenza	Fecha de caducidad	Date limite d'utilisation	Prazo de validade
	Manufacturer *	Hersteller *	Fabbricante	Fabricante	Fabricant	Fabricante
	Distributor *	Vertriebspartner *	Distributore	Distribuidor	Distributeur	Distribuidor
	Date of manufacture *	Herstellungsdatum *	Data di produzione	Fecha de fabricación	Date de production	Data de fabricação
	Biological risks *	Biologische Risiken *	Rischi biologici	Riesgos biológicos	Risques biologiques	Riscos biológicos
	Caution *	Achtung *	Attenzione	Precaución	Attention	Cuidado
	Unique device Identifier *	eindeutige Produktidentifizierung *	Identificativo unico del dispositivo*	Identificación exclusiva del dispositivo *	Identifiant de dispositif unique*	Identificador único do dispositivo *
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches	
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Conditionnement	Conteúdo
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité	Volume / Quantidade