



Istruzioni per l'uso

Valido a partire da 18.08.2022

SELco® anti-TPO human

REF 2080

Saggio radioimmunologico per la determinazione degli anticorpi contro la perossidasi tiroidea (TPO) nel siero umano



Medipan GmbH
Ludwig-Erhard-Ring 3
15827 Blankenfelde-Mahlow OT Dahlewitz
Germania

Telefono: +49 33708 4417 0
Fax: +49 33708 4417 25

info@medipan.de
www.medipan.de



1 Destinazione d'uso

Il SELco® anti-TPO human è un immunodosaggio quantitativo per la determinazione degli anticorpi contro la perossidasi tiroidea (TPO) nel siero umano.

Il SELco® anti-TPO human è inteso come ausilio nella diagnosi di malattie della tiroide in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio.

L'immunodosaggio è progettato per l'uso professionale manuale nella diagnostica *in vitro*.

2 Rilevanza diagnostica

La TPO è un enzima essenziale della membrana apicale della cellula tiroidea coinvolto nella biosintesi degli ormoni tiroidei. Inoltre, insieme alla tireoglobulina (Tg) e al recettore del TSH, la TPO è anche uno dei tre antigeni tiroidei che vengono presi di mira dal sistema immunitario nelle malattie autoimmuni della tiroide. Mentre gli anticorpi contro il recettore del TSH sono principalmente associati alla malattia di Graves (ipertiroidismo autoimmune), gli autoanticorpi contro la TPO e contro la Tg si riscontrano in varie tireopatie, soprattutto nell'ipotiroidismo autoimmune (tiroidite di Hashimoto).

Le tireopatie autoimmuni si distinguono nell'ecografia tiroidea per un modello sonoro povero di eco e sono caratterizzate, tra l'altro, dalla presenza nel siero di autoanticorpi contro gli antigeni tiroidei.

Pertanto, la determinazione degli anti-TPO è indicata (i) per l'individuazione di una tiroidite immune e per il chiarimento diagnostico differenziale dell'ipotiroidismo, comprese le forme subcliniche o latenti (ii) nella malattia di Graves, soprattutto in caso di riscontro negativo di autoanticorpi del recettore del TSH e di sospetto clinicamente giustificato. Ulteriori indicazioni sono

l'esclusione di malattie immunogene della tiroide nel gozzo eutiroideo e la valutazione del rischio di aborto in gravidanza.

3 Principio del saggio

I radiodosaggi basati sulla tecnologia delle provette rivestite sono ampiamente utilizzati per la determinazione di specifici anticorpi. Il SELco® anti-TPO human si basa su una reazione competitiva tra gli anticorpi contro la perossidasi tiroidea (TPO) dei campioni del paziente e gli anticorpi contro la perossidasi tiroidea rivestiti sulla superficie interna delle provette per i siti di legame con l'antigene della perossidasi tiroidea iodata (¹²⁵I) fornita con il tracciante. L'attività degli anticorpi nel campione del paziente influenza l'attività del tracciante che si lega agli anticorpi contro la perossidasi tiroidea sulla superficie delle provette. La decantazione della miscela di reazione consente la semplice separazione degli immunocomplessi generati sulla superficie della provetta dalla miscela di reazione. La radioattività della provetta è misurata e risulta inversamente proporzionale all'attività degli anticorpi del paziente contro la perossidasi tiroidea nel campione.

4 Componenti del saggio

Componente	Descrizione
Provette rivestite A CT 2 x 50 pezzi	Provette rivestite con anticorpi policlonali umani contro la TPO (pronte all'uso)
Calibratore 0 - 5 CAL 6 x 0,75 mL	Diluizioni di plasma umano (pronte all'uso; contengono azoturo di sodio) Le attività anticorpali sono indicate nel certificato di controllo della qualità.
Controllo basso CI CONTROL 1 x 0,75 mL	Diluizione di plasma umano (pronto all'uso; contiene azoturo di sodio) L'attività dell'anticorpo è indicata sul certificato di controllo di qualità.
Controllo alto CII CONTROL 1 x 0,75 mL	Diluizione di plasma umano (pronto all'uso; contiene azoturo di sodio) L'attività dell'anticorpo è indicata sul certificato di controllo di qualità.
Tracciante D TRAC 2 x 16 mL	 Perossidasi tiroidea coniugata a Iodio-125 (< 0,26 MBq, t _{1/2} = 59 giorni; radiazione gamma 35 keV, radiazione x 27 keV, 31 keV; pronto all'uso; contiene azoturo di sodio)
Certificato CQ 1 pezzo	-
Istruzioni per l'uso 1 pezzo	-

5 Materiale necessario ma non fornito

- Comuni apparecchiature di laboratorio
- Pipette di precisione (5 - 1000 µL) e puntali monouso
- Provette per il conteggio totale e portaprovette
- Foglio di plastica
- Miscelatore a vortice o altri rotatori
- Agitatore
- Contatore γ
- Carta assorbente
- Acqua distillata o deionizzata

6 Conservazione e stabilità

Una volta ricevuti, tutti i componenti del saggio devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C, preferibilmente nella confezione originale del kit. Se conservati correttamente nei loro contenitori originali, tutti i componenti sono stabili fino alla data di scadenza.

7 Informazioni generali

Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*. Le istruzioni per l'uso devono essere lette attentamente prima dell'uso. Esse sono valide solo per il presente prodotto con la composizione indicata e devono essere seguite rigorosamente per garantirne risultati affidabili. Eventuali deviazioni possono portare a risultati errati. I componenti non devono essere scambiati con reagenti di lotti diversi o di altri produttori.

La contaminazione dei reagenti deve essere evitata utilizzando tecniche asettiche durante il prelievo dai contenitori. Dopo l'uso, le fiale di reagente devono essere chiuse ermeticamente con i rispettivi tappi.

La contaminazione incrociata di campioni o reagenti può portare a risultati incoerenti e deve essere evitata utilizzando tecniche di pipettaggio coerenti.

8 Preparazione

8.1 Preparazione dei reagenti

Tutti i componenti devono essere portati a temperatura ambiente (TA: da 18 °C a 25 °C) prima dell'uso per almeno 30 minuti. Tutti i componenti liquidi devono essere miscelati delicatamente per garantirne l'omogeneità. Si deve evitare la formazione di schiuma.

8.1.1 Provette rivestite

Le provette rivestite sono sigillate in un sacchetto di alluminio. Le provette non utilizzate devono essere sempre conservate in frigorifero e protette dall'umidità.

8.1.2 Calibratori

I calibratori sono pronti all'uso e non devono essere ulteriormente diluiti. I calibratori devono essere utilizzati per ogni saggio.

8.1.3 Controlli

I controlli sono pronti all'uso e non devono essere ulteriormente diluiti. I controlli devono essere utilizzati in ogni analisi. I laboratori possono anche convalidare i propri campioni di controllo e utilizzarli in alternativa.

8.1.4 Tracciante

Il tracciante è pronto all'uso e non deve essere ulteriormente diluito.

8.2 Preparazione dei campioni

8.2.1 Materiale campione

Si raccomanda l'uso di siero appena raccolto da sangue prelevato mediante venipuntura. Si deve evitare l'uso di campioni itterici, lipemici, emolitici o contaminati da batteri. Le sostanze insolubili devono essere rimosse dal campione mediante centrifugazione. I campioni non devono essere inattivati termicamente.

8.2.2 Conservazione dei campioni

I campioni possono essere conservati a 2 °C - 8 °C fino a tre giorni. La conservazione a lungo termine richiede -20 °C. È necessario evitare il congelamento e lo scongelamento ripetuti. Per un uso multiplo, i campioni devono essere aliquotati e conservati a -20 °C.

9 Prestazioni del saggio

9.1 Procedura

È necessario preparare una quantità sufficiente di provette, compresa una provetta extra non rivestita per analizzare il tracciante isolato come riferimento per la radioattività totale. È necessario rispettare i tempi e le temperature di incubazione indicati ed evitare significativi sbalzi di tempo durante il pipettaggio dei campioni e dei reagenti.

Fase	Descrizione
1. Aggiunta di calibratori, controlli e campioni non diluiti	Aggiungere 10 µL di calibratori, controlli e campioni non diluiti pronti all'uso per ogni provetta. Preparare un'ulteriore provetta non rivestita per il materiale tracciante isolato per determinare la radioattività totale T come riferimento.
2. Aggiunta di tracciante	Aggiungere 300 µL di materiale tracciante per ogni provetta, compresa la provetta aggiuntiva per determinare la radioattività totale T come riferimento. Sigillare tutte le provette con un foglio di plastica. La provetta di riferimento per la radioattività totale T deve essere messa da parte fino al momento dell'analisi.
3. Incubazione	Incubare le provette per 120 minuti a temperatura ambiente su un agitatore. Regolare la velocità per consentire una rotazione costante del liquido (circa 600 rpm).
4. Aggiunta di acqua distillata	Aggiungere 1,0 mL di acqua distillata a ciascuna provetta.
5. Decantazione	Decantare il surnatante da tutte le provette capovolgendo il portaprovette. Per rimuovere il liquido residuo, capovolgere le provette (2 min) e assorbire le gocce tamponando su carta assorbente.
6. Analisi	Misurare la radioattività di tutte le provette, compresa quella di riferimento T, con un contatore γ e un tempo di conteggio consigliato di 1 minuto.

9.2 Automazione

L'elaborazione automatizzata dei saggi immunologici può essere eseguita con RIAMat SR300, o equivalenti, analogamente all'uso manuale e convalidata dall'utente. Quando si utilizza il sistema RIAMAT automatizzato, grazie alla diversa geometria di miscelazione, la frequenza di agitazione standard è sufficiente.

10 Valutazione del saggio

10.1 Tracciabilità metrologica

L'immunodosaggio è calibrato utilizzando il preparato di riferimento NIBSC codice 66/387 (NIBSC: Nat. Inst. for Biol. Standards and Control, Hampstead, Londra, U.K.). I risultati quantitativi sono espressi in UI/mL.

10.2 Valutazione quantitativa

La valutazione si basa sulla radioattività misurata (conteggi al minuto; cpm) o sui tassi di legame. I tassi di legame B/T (%) sono calcolati dividendo la radioattività misurata (conteggi al minuto; cpm) di tutti i calibratori, i controlli e i campioni dei pazienti con la radioattività totale T. È possibile utilizzare anche i tassi di legame

B/B₀ (%) calcolati dividendo tutti i valori di cpm misurati con il valore di cpm di CAL 0.

Per la generazione di una curva di calibrazione, la radioattività misurata (conteggi al minuto; cpm) o i tassi di legame calcolati B/T (%) o B/B₀ (%) dei calibratori sono tracciati rispetto alle loro concentrazioni e correlati mediante interpolazione *spline*. Le concentrazioni dei campioni sconosciuti possono essere ricavate direttamente dalla loro radioattività misurata (conteggi al minuto; cpm) o dai tassi di legame calcolati B/T (%) o B/B₀ (%) utilizzando la curva di calibrazione generata.

10.3 Criteri di validità

I saggi sono validi solo se sono soddisfatti i seguenti criteri di validità:

- cpm o B/T (%) o B/B₀ (%) CAL 5 < CAL 4 < CAL 3 < CAL 2 < CAL 1 < CAL 0
- I controlli devono presentare un'attività anticorpale compresa nell'intervallo di validità indicato nel certificato di controllo di qualità.

Se questi criteri non sono soddisfatti, il saggio non è valido e deve essere ripetuto.

10.4 Risoluzione dei problemi

In caso di saggi non validi, occorre verificare le date di scadenza e le condizioni di conservazione, i tempi e le temperature di incubazione e l'esatta calibrazione di tutti gli strumenti utilizzati. Se non è stato possibile identificare una ragione per l'invalidità del saggio, contattare il fornitore o il produttore del prodotto.

10.5 Intervalli di riferimento

Gli intervalli di riferimento sono indicati di seguito:

	Interpretazione
Attività anticorpale < 50 UI/mL	negativo
Attività anticorpale ≥ 50 UI/mL	positivo

A causa delle diverse sieroprevalenze nelle singole regioni, ogni laboratorio deve verificare gli intervalli di riferimento con analisi proprie e adattarli, se necessario.

10.6 Interpretazione dei risultati dei saggi

Un risultato positivo del saggio indica la presenza di anticorpi specifici. Un risultato negativo indica l'assenza di anticorpi specifici, ma non esclude la possibilità di una reazione autoimmune. In caso di risultati incerto, non è possibile effettuare una valutazione affidabile.

10.7 Limiti del metodo

Oltre il 90% dei casi di tiroidite autoimmune è positivo agli anti-TPO. Nella malattia di Graves attiva la percentuale di risultati positivi agli anti-TPO è superiore al 70%. La tiroidite subacuta di De Quervain risulta normalmente anti-TPO negativa.

Anche bassi valori positivi di anti-TPO indicano la presenza di processi autoimmuni. Tuttavia, ciò non significa inevitabilmente che esista già una disfunzione tiroidea o che questa sia clinicamente manifesta.

L'interpretazione dei risultati dei saggi deve sempre essere considerata in combinazione con il quadro clinico del paziente. La diagnosi non deve basarsi sui risultati di un solo metodo diagnostico. Tutti i risultati clinici e di laboratorio devono essere valutati per formulare una diagnosi. Per la conferma, è necessario eseguire ulteriori indagini.

11 Caratteristiche delle prestazioni

11.1 Caratteristiche delle prestazioni analitiche

11.1.1 Sensibilità e specificità analitica

Il limite del bianco (LoB) è stato determinato mediante analisi multiple del diluente del campione. Il limite di rilevamento (LoD) e il limite di quantificazione (LoQ) sono stati valutati mediante analisi multiple di campioni negativi.

	Sensibilità analitica
Limite del vuoto (LoB)	< 2,4 UI/mL
Limite di rilevamento (LoD)	2,4 UI/mL
Limite di quantificazione (LoQ)	12,0 UI/mL

11.1.2 Precisione

La precisione dei risultati del saggio è stata valutata mediante la determinazione della variazione intra- e inter-saggio attraverso l'analisi di più campioni con diverse concentrazioni di antigene.

	Precisione intrasaggio		Precisione intersaggio	
	IU/mL	CV (%)	IU/mL	CV (%)
Campione 1	12	10,1	12	15,2
Campione 2	16	11,7	16	10,9
Campione 3	34	5,9	36	8,3
Campione 4	76	9,3	79	6,2
Campione 5	415	8,2	445	6,5

11.1.3 Intervallo di misura

L'accuratezza, l'esattezza, la precisione, la linearità e il recupero dei risultati del saggio sono stati osservati nell'intervallo di misura del saggio dal LoQ al calibratore superiore in studi completi. I campioni con risultati del saggio superiori al calibratore superiore devono essere riportati come >max. I campioni con risultati del saggio inferiori al LoQ devono essere indicati come <min. Se si osservano risultati del saggio superiori al calibratore superiore, i campioni possono essere analizzati con una diluizione maggiore. La concentrazione risultante deve essere moltiplicata per il fattore di diluizione aggiuntivo.

11.2 Caratteristiche delle prestazioni diagnostiche

11.2.1 Accuratezza diagnostica

L'accuratezza diagnostica del SELco® anti-TPO human è stata valutata mediante l'analisi di 112 campioni in confronto a un altro saggio. Il coefficiente di determinazione R² tra i due saggi è risultato pari a 0,75. I risultati di concentrazione ottenuti sono in buon accordo. Risultati discordanti sono stati riscontrati solo in 8 campioni (7,14%). La bassa correlazione è dovuta alla differenza degli anticorpi utilizzati nei saggi.

12 Avvertenze e precauzioni

Il prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro* da parte di personale qualificato, autorizzato e addestrato. Tutti i componenti del saggio e i campioni umani devono essere maneggiati con cura in quanto potenzialmente pericolosi. È necessario attenersi alle buone pratiche di laboratorio (BPL) e a tutte le normative pertinenti.

Nel caso in cui il prodotto sia danneggiato o le informazioni sul prodotto, compresa l'etichettatura, siano errate o non corrette, si prega di contattare il produttore o il fornitore.

Questo prodotto contiene preparati di origine umana e/o animale. Qualsiasi materiale derivato da fluidi corporei umani o da organi utilizzati per la preparazione dei componenti è stato testato ed è risultato negativo all'HBsAg (Antigene di superficie del virus dell'epatite B) e agli anticorpi anti-HIV e anti-HCV. Tuttavia, tutti i componenti e tutti i campioni dei pazienti devono essere trattati come potenzialmente pericolosi in conformità alle leggi nazionali e alle linee guida appropriate sulla sicurezza biologica.

Poiché il prodotto contiene materiali potenzialmente pericolosi e/o radioattivi, è necessario seguire le seguenti precauzioni: Non fumare, mangiare o bere durante la manipolazione del materiale del kit o dei campioni. Evitare il contatto diretto con il materiale del kit o con i campioni indossando guanti protettivi, camice da laboratorio e occhiali di sicurezza. Non pipettare mai il materiale per bocca. Pulire prontamente le fuoriuscite e lavare

accuratamente la superficie interessata con un decontaminante. Lavare accuratamente le mani dopo l'uso.

Alcuni reagenti contengono azoturo di sodio (< 0,1%) come conservante e non devono essere ingeriti o lasciati entrare in contatto con la pelle o le mucose. La possibile formazione di azoturi di metalli pesanti negli scarichi deve essere evitata mediante un sufficiente risciacquo con acqua.

È necessario osservare le informazioni contenute nella scheda di sicurezza relative ai possibili pericoli, alle misure di primo soccorso, alle misure da adottare in caso di rilascio involontario di grandi quantità, alla manipolazione e allo stoccaggio, ai dispositivi di protezione individuale, alle informazioni sullo smaltimento e alle informazioni sulla tossicologia.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utilizzatore e/o il paziente.

13 Smaltimento

Per la decontaminazione e lo smaltimento è necessario attenersi alle raccomandazioni del CDC e alle linee guida e normative ambientali locali e nazionali pertinenti. I campioni, i materiali potenzialmente contaminati e i rifiuti infettivi devono essere decontaminati, ad esempio mediante autoclavaggio per 20 minuti a 121 °C.

Alcuni reagenti contengono materiale radioattivo. I tessuti, le provette, le coperture dei banchi, i guanti ecc. contaminati devono essere smaltiti in un contenitore appositamente contrassegnato. Smaltire i rifiuti radioattivi liquidi e solidi solo come consentito dalle autorità e dalle normative federali, statali o locali. È responsabilità dell'utente di questo prodotto manipolare il materiale radioattivo in conformità alle norme nazionali previste dalla legge o ad altre dichiarazioni delle autorità locali.

14 Riferimenti

- Pfannenstiel P., Hotze L.-H. und Saller B. Schilddrüsen-Krankheiten. Diagnose und Therapie, 4. Auflage. Berliner Medizinische Verlagsgesellschaft GmbH 1999; 25 - 7, 58 - 68, 103 - 14, 237 ff.

- Weetman A.P. and McGregor A.M. Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. Endocr Rev. 1994, 15, 788 - 830.

- Baloch Z., Carayon P., Conte-Devolx B., Demers L.M., Feldt-Rasmussen U., Henry J.F., LiVosli V.A., Niccoli-Sire P., John R., Smyth P.P., Spencer C.A., and Stockigt J.R.; Guidelines Committee, National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. Thyroid 2003, 13, Section 3 D, 45 – 56.

- Prummel M.F. and Wiersinga W.M. Thyroid autoimmunity and miscarriage. Eur. J. Endocrinol. 2004, 150, 751 – 5.

15 Simboli

	Produttore
	Marchio di conformità CE
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Numero di catalogo
	Identificatore univoco del dispositivo
	Codice lotto
	Limite di temperatura
	Data di scadenza
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Contiene un numero sufficiente per <n> saggi
	Non riutilizzare
	Attenzione
	Rischio biologico
	Tenere lontano dalla luce del sole
	Materiale radioattivo o radiazioni ionizzanti
	Provetta rivestita
	Calibratore
	Controllo
	Tracciante

16 Modifiche

Modifiche alle attuali istruzioni per l'uso	
Versione attuale	005/08.2022
Sintesi delle modifiche	Modifiche editoriali in tutte le sezioni.