



T4-RIA-CT

KIP1641 - KIP1644

Read entire protocol before use.

T4-RIA-CT

I. INTENDED USE

Radioimmunoassay for the *in vitro* quantitative measurement of human Thyroxine (T4) in serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name :** DIAsource T4-RIA-CT Kit
- B. Catalog number :** KIP1641 : 96 tests
KIP1644: 4 x 96 tests
- C. Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Biological activity

L-Thyroxine (T4) is a hormone that is synthesized and stored in the thyroid gland. Proteolytic cleavage of follicular thyroglobulin releases T4 into the bloodstream. Greater than 99% of T4 is reversibly bound to three plasma proteins in blood – thyroxine binding globulin (TGB) binds 70%, thyroxine binding pre-albumin (TBA) binds 20%, and albumin binds 10%. Approximately 0.03% of T4 is in the free, unbound state in blood at any one time.

B. Clinical applications

Diseases affecting thyroid function may present a wide array of confusing symptoms. Measurement of total T4 by immunoassay is the most reliable and convenient screening test available to determine the presence of thyroid disorders in patients. Increased levels of T4 have been found in hyper-thyroidism due to Grave's disease and Plummer's disease and in acute and sub acute thyroiditis. Low levels of T4 have been associated with congenital hypothyroidism, myxedema, chronic thyroiditis (Hashimoto's disease) and with some genetic abnormalities.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

A fixed amount of ^{125}I labelled T4 competes with the T4 to be measured present in the sample or in the calibrator for a fixed amount of anti-T4 antibody sites, which are bound to the goat anti mouse (GAM) antibodies immobilized to the wall of a polystyrene tube. After 1 hour incubation at room temperature, an aspiration step terminates the competition reaction. The tubes are then washed with 2 ml of working wash solution and aspirated again. A calibration curve is plotted and the T4 concentrations of the samples are determined by dose interpolation from the calibration curve.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 Test Kit	4 x 96 Test Kit	Colour Code	Reconstitution			
 Tubes coated with GAM (Goat anti Mouse)	2 x 48	8 x 48	black	Ready for use			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodine labelled T4 (HPLC grade) in phosphate buffer with bovine casein and azide (<0.1%)	Ag	¹²⁵ I	1 vial 21 ml 111 kBq	4 vials 21 ml 4x111 kBq	red	Ready for use	
Ag	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Zero Calibrator in human serum, gentamycin and thymol	CAL	0	1 vial lyophil.	2 vials lyophil.	yellow	Add 0.5 ml distilled water	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrators - N = 1 to 5 (see exact values on vial labels) in human serum, gentamycin and thymol	CAL	N	5 vials lyophil.	10 vials lyophil.	yellow	Add 0.5 ml distilled water	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ab</td></tr></table> Anti-T4 (monoclonal) antibodies in phosphate buffer with bovine serum albumin and thymol	Ab	1 vial lyophil.	4 vials lyophil.	blue	Add 11ml distilled water		
Ab							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wash solution (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	4 vials 10 ml	brown	Dilute 70 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controls - N = 1 or 2 in human serum with gentamycin and thymol	CONTROL	N	2 vials lyophil.	4 vials lyophil.	silver	Add 0.5 ml distilled water	
CONTROL	N						

Note : Use the zero calibrator for sera dilutions.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

- Distilled water
- Pipettes for delivery of: 20 μl , 100 μl , 200 μl and 500 μl (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- Tube shaker
- 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
- Aspiration system (optional)
- Any gamma counter capable of measuring ^{125}I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators:** Reconstitute the calibrators with 0.5 ml distilled water.
- Controls:** Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- Anti-T4:** Reconstitute the anti-T4 with 11 ml distilled water.
- Working Wash solution:** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable for 7 days at 2-8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximum 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- After reconstitution, the anti-T4 antibodies are stable for 6 weeks at 2-8°C. **DO NOT FREEZE.**
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Serum samples must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 24 hrs, storage at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

X. PROCEDURE

A. Handling notes

Do not use the kit or components beyond expiry date.
Do not mix materials from different kit lots.
Bring all the reagents to room temperature prior to use.
Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling.
Use a clean disposable pipette tip for addition of each different reagent and sample in order to avoid cross-contamination. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.
Respect the incubation times.
Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

B. Procedure

- Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For the determination of total counts, label 2 normal tubes
- Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 20 μl of each into the respective tubes.
- Dispense 200 μl of ^{125}I Iodine labelled T4 into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
- Dispense 100 μl of anti-T4 into each tube, except tubes for total counts.
- Shake the tube rack gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
- Incubate for 1 hour at room temperature with continuous shaking.
- Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
- Wash tubes with 2 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
- Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
- Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

- Calculate the mean of duplicate determinations.
- Calculate the bound radioactivity as a percentage of the binding determined at the zero calibrator point (0) according to the following formula :

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{Counts (Calibrator or sample)}}{\text{Counts (Zero Calibrator)}} \times 100$$

- Using a 3 cycle semi-logarithmic or logit-log graph paper, plot the (B/B₀(%)) values for each calibrator point as a function of the T4 concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
- Computer assisted methods can also be used to construct the calibration curve. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.
- By interpolation of the sample (B/B₀ (%)) values, determine the T4 concentrations of the samples from the calibration curve.
- For each assay, the percentage of total tracer bound in the absence of unlabelled T4 (B₀/T) must be checked.

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

T4	cpm	B/Bo (%)
Total count	32598	B/Bo
Calibrator		
0 nmol/l	12661	100.0
12.8 nmol/l	11434	90.3
32 nmol/l	8460	66.8
80 nmol/l	4554	36.0
200 nmol/l	2020	16.0
500 nmol/l	932	7.4

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations below the average counts at zero binding, was < 5 nmol/l.

B. Specificity

The percentage of cross-reaction estimated by comparison of the concentration yielding a 50% inhibition are respectively:

Compound	Cross-Reactivity (%)
L- thyroxine (L-T4)	100
D-thyroxine (D-T4)	48
L-3,3',5 - triiodothyronine (L-T3)	1.01
L-3,3',5' - triiodothyronine (rT3)	7

Note: this table shows the cross-reactivity for the anti T4

C. Precision

INTRA-ASSAY PRECISION				INTER-ASSAY PRECISION			
Serum	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)
A	10	32.4 ± 1.8	5.6	A	18	32.7 ± 2.1	6.5
B	10	183.8 ± 5.9	3.2	B	20	235.3 ± 15.2	6.5

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

DILUTION TEST			
Sample	Dilution	Theoretical Concent. (nmol/l)	Measured Concent. (nmol/l)
A	1/1	-	425
	1/2	212.5	194.3
	1/4	106.3	89.1
	1/8	53.1	48.8
	1/16	26.6	22.5

Samples were diluted with zero calibrator.

RECOVERY TEST			
Sample	added T4 (nmol/l)	Recovered T4 (nmol/l)	Recovered (%)
1	32.2	27.1	84%
	64.4	67.8	105%
	128.7	132.6	103%
	257.4	290.5	113%
	386.1	444.8	115%

To the best of our knowledge, no international reference material exists for this parameter.

E. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 60 minutes after the calibrator has been added to coated tubes.

TIME DELAY				
Serum nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	46.5	43.0	38.6	36.4
C 2	202.5	212.6	207.3	201.0

XIV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises.

XV. REFERENCE INTERVALS

These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

T4 concentrations for untreated euthyroid subjects (n=298) ranged from 60 to 157 nmol/l . The ranges are expressed as 2.5% to 97.5% percentiles

XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For *in vitro* diagnostic use only.

This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days) ,emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations. This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area. away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVII. BIBLIOGRAPHY

1. Davis J.P. (1991)
Cellular actions of thyroid hormones.
The Thyroid. 190-230. 6th ed. Braverman L.E., Ultiger R.D.

2. Stockigt J.R. (1996)
Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness.
Clin. Chem. 42 (1); 188-192.

3. Fisher D.A. (1996)
Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations.
Clin. Chem. 42 (1); 135-139.

4. Nelson J.C. and Wilcox R.B. (1996)
Analytical performance of free and total thyroxine assays.
Clin. Chem. 42 (1); 146-154.

5. Robbins, J. (1973)
Radioassay and Thyroid Gland.
Metabolism, 22 (8) : 1021.

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µl	CALIBRATORS µl	SAMPLE (S) CONTROLS µl
Calibrators (0 to 5)	-	20	-
Samples, Controls	-	-	20
Tracer	200	200	200
Anti-T4	-	100	100
Incubation	1 hour at room temperature with continuous shaking		
Separation	-	Aspirate (or decant)	
Working Wash solution		2.0 ml	
Separation		Aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIAsource Catalogue Nr : KIP1641	P.I. Number : 1700581/en	Revision nr : 090424/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Revision date : 2009-04-24

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

T4-RIA-CT

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunométrique pour la mesure quantitative *in vitro* de la thyroxine humaine (T4) dans le sérum.

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. Nom du produit :** DIAsource T4-RIA-CT kit
- B. Numéro de catalogue:** KIP1641 : 96 tests
KIP1644 : 4 x 96 tests
- C. Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgique.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CONTEXTE CLINIQUE

A. Activité biologique

La L-Thyroxine (T4) est une hormone synthétisée et stockée dans la glande thyroïde. Le clivage protéolytique de la thyroglobuline folliculaire relâche la T4 dans la circulation sanguine. Plus de 99% de la T4 sont liés de manière réversible à trois protéines plasmatiques: la globuline de liaison de la thyroxine (TGB) en lie 70%, la pré-albumine de liaison de la thyroxine 20% et l'albumine 10%. Approximativement 0,03% de la T4 se trouve à tout moment dans le sang sous forme libre, non liée.

B. Applications cliniques

Les maladies affectant la fonction thyroïdienne peuvent présenter une large gamme de symptômes déroutants. La mesure de la T4 totale par dosage radio-immunométrique est le test de dépistage le plus fiable et le plus commode pour déterminer la présence de désordres thyroïdiens chez les patients. On retrouve une augmentation des taux de T4 dans l'hyperthyroïdie due à la maladie de Grave, la maladie de Plummer et dans les thyroïdites aiguës et subaiguës. Des taux de T4 bas sont associés à un hypothyroïdisme congénital, un myxoedème, une thyroïdite chronique (maladie de Hashimoto) et à certaines anomalies génétiques.

IV. PRINCIPE DU DOSAGE

Une quantité définie de T4 marquée à l¹²⁵I entre en compétition avec la T4 à doser présente dans l'échantillon ou dans le calibrateur pour une quantité définie de sites d'anticorps anti-T4 liés aux anticorps de chèvre anti-souris (CAS) immobilisés sur les parois d'un tube en polystyrène. Après 1 heure d'incubation à température ambiante, le liquide est aspiré pour terminer la réaction de compétition. Les tubes sont lavés avec 2 ml de Solution de Lavage et aspirés à nouveau. Une courbe de calibration est réalisée et les concentrations en T4 des échantillons sont déterminées par une interpolation de dose à partir de la courbe de calibration.

V. REACTIFS FOURNIS

Réactifs	96 Tests	4 x 96 Tests	Code couleur	Reconstitution
 Tubes recouverts avec CAS (chèvre anti-souris)	2 x 48	8 x 48	Noir	Prêt à l'emploi
Ag ¹²⁵I TRACEUR: T4 marquée à l'¹²⁵Iode (grade HPLC) dans un tampon phosphate avec de la caséine bovine et de l'azoture (<0.1%)	1 flacon 21 ml 111 kBq	4 flacons 21 ml 4x111 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi
CAL 0 Calibrateur zéro dans du sérum humain, du thymol et de la gentamycine	1 flacon lyophilisés	2 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée
CAL N Calibrateurs - N = 1 à 5 (cf. valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum humain, du thymol et de la gentamycine	5 flacons lyophilisés	10 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée
Ab Anticorps anti-T4 (monoclonal) dans un tampon phosphate avec de la sérum-albumine bovine et du thymol	1 flacon lyophilisés	4 flacons lyophilisés	Bleu	Ajouter 11 ml d'eau distillée
WASH SOLN CONC Solution de lavage (TRIS-HCl)	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	Brun	Diluer 70x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
CONTROL N Contrôles - N = 1 ou 2 dans le sérum humain avec de la gentamycine et du thymol	2 flacons lyophilisés	4 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée

Note : Utiliser le calibrateur zéro pour la dilution des sérums

VI. MATERIEL NON FOURNI

Le matériel mentionné ci-dessous est requis mais non fourni avec la trousse:

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer: 20µl, 100µl, 200µl et 500 µl (l'utilisation de pipettes précises et de pointes jetables en plastique est recommandée)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Agitateur de tubes
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d'aspiration
- Tout compteur gamma capable de mesurer l¹²⁵I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

- Calibrateurs** : Reconstituer les calibrateurs avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Contrôles** : Reconstituer les contrôles avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Anti-T4**: Reconstituer l'anti-T4 avec 11 ml d'eau distillée.
- Solution de Lavage** : Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date d'expiration, indiquée sur l'étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Après reconstitution, les calibrateurs et les contrôles sont stables pendant une semaine entre 2 et 8°C. Pour de plus longues périodes de stockage, des aliquotes devront être réalisées et celles-ci seront gardées à -20°C. Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- Après reconstitution, les anticorps anti-T4 sont stables pendant 6 semaines à 2-8°C. **NE PAS SURGELER.**
- La Solution de Lavage préparée doit être utilisée le jour même.
- Après la première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration, si celui-ci est conservé entre 2 et 8°C dans le flacon d'origine correctement fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons de sérum doivent être gardés entre 2 et 8°C.
- Si le test n'est pas réalisé dans les 24 heures, un stockage à -20°C est recommandé.
- Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.

X. MODE OPERATOIRE

A. Notes de manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d'expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousses de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Mélanger à fond tous les réactifs et les échantillons sous agitation douce. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette pour l'addition de chaque réactif et échantillon. Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d'augmenter la précision. Respecter les temps d'incubation. Préparer une courbe de calibration pour chaque nouvelle série d'expériences, ne pas utiliser les données d'expériences précédentes.

B. Mode opératoire

- Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts.
- Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les échantillons et les contrôles. Puis distribuer 20 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.
- Distribuer 200 µl de T4 marquée à l¹²⁵Iode dans chaque tube, y compris les tubes sans anticorps pour la détermination de l'activité totale.
- Distribuer 100 µl d'anti-T4 dans chaque tube à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale.
- Agiter gentiment le portoir de tube pour libérer toute bulle d'air emprisonnée.
- Incuber pendant 1 heure à température ambiante sous agitation continue.
- Aspirer le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
- Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
- Laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer le reste de liquide.
- Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Calculer la capacité de liaison de l'essai comme un pourcentage de liaison déterminé au point de calibration (0) en suivant la formule ci-dessous :

$$B/B0(\%) = \frac{\text{moyenne des cpm (CAL ou échantillon)}}{\text{moyenne des cpm (CAL 0)}} \times 100$$

- Utiliser un "3 cycle semi-logarithmique" ou un papier graphique "logit-log", porter en ordonnée les valeurs exprimées en pourcentage de liaison (B/B0(%)) de chaque point de calibration et en abscisse leur concentration respective en T4, écarter les valeurs aberrantes.

4. Des méthodes informatiques peuvent aussi être utilisées pour construire la courbe de calibration. Si un système d’analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d’utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.
5. L’interpolation des valeurs de chaque échantillon (B/B0(%)) détermine les concentrations en T4 à partir de la courbe de calibration.
6. Pour chaque essai, le pourcentage total de traceur lié en absence de T4 non marquée (B0/T) doit être vérifié.

XII. DONNEES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont données pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d’une courbe de calibration.

T4-RIA-CT		cpm	B/Bo (%)
Activité totale		32598	B/Bo
Calibrateur	0 nmol/l	12661	100,0
	12,8 nmol/l	11434	90,3
	32 nmol/l	8460	66,8
	80 nmol/l	4554	36,0
	200 nmol/l	2020	16,0
	500 nmol/l	932	7,4

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

- A. Limite de détection
- Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d’autres calibrateurs.
- La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 déviations standards en dessous de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de < 5 nmol/l.

B. Spécificité

Le pourcentage de réaction croisée estimé par la comparaison de la concentration (indiquant une inhibition de 50 %) est respectivement :

Composé	Réactivité Croisée (%)
L- thyroxine (L-T4)	100
D-thyroxine (D-T4)	48
L-3,3',5 – triiodothyronine (L-T3)	1,01
L-3,3',5' – triiodothyronine (rT3)	7

Note: cette table montre la réactivité croisée pour l’anti-T4

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)
A	10	32,4 ± 1,8	5,6	A	18	32,7 ± 2,1	6,5
B	10	183,8 ± 5,9	3,2	B	20	235,3 ± 15,2	6,5

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE DILUTION			
Echantillon	Dilution	Concent. Théorique (nmol/l)	Concent. Mesurée (nmol/l)
A	1/1	-	425
	1/2	212,5	194,3
	1/4	106,3	89,1
	1/8	53,1	48,8
	1/16	26,6	22,5

Les échantillons ont été dilués avec le Calibrateur zéro.

TEST DE RECUPERATION			
Echantillon	T4 ajoutée (nmol/l)	T4 récupérée (nmol/l)	Récupération (%)
1	32,2	27,1	84%
	64,4	67,8	105%
	128,7	132,6	103%
	257,4	290,5	113%
	386,1	444,8	115%

A notre connaissance, aucun matériel de référence internationale n’existe pour ce paramètre.

- E. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l’échantillon
- Comme montré ci-dessous, les résultats d’un essai restent précis même quand un échantillon est distribué 60 minutes après que le calibrateur ait été ajouté aux tubes avec l’anticorps.

DELAÏ				
Sérum nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	46,5	43,0	38,6	36,4
C 2	202,5	212,6	207,3	201,0

XIV. CÔNTROLE QUALITE INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le(s) contrôle(s) 1 et/ou 2 ne sont pas dans l’intervalle spécifié sur l’étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l’on ait donné une explication satisfaisante de la non-conformité.
- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d’échantillons contrôles, lesquels doivent être congelés aliquotés.
- Les critères d’acceptation pour les écarts des valeurs en duplicat des échantillons doivent être basés sur les pratiques de laboratoire courantes.

XV. VALEURS ATTENDUES

Les valeurs sont données à titre d information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.
La fourchette des concentrations en T4 pour des sujets euthyroïdiens non traités (n=298) est de 60 à 157 nmol/l. Les fourchettes représentent les percentiles 2.5% à 97.5%.

XVI. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.
Cette trousse contient de l’¹²⁵I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).
Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l’achat, le stockage, l’utilisation et l’échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l’homme ou aux animaux.
Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L’équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d’éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.
Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate
Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l’Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l’anti-HCV, l’anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d’hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l’ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.
L’azoture de sodium est nocif s’il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l’azoture de sodium est utilisé comme agent conservateur). L’azoture dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l’eau le matériel utilisé.
Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVII. BIBLIOGRAPHIE

1. Davis J.P. (1991)
Cellular actions of thyroid hormones.
The Thyroid. 190-230. 6th ed. Braverman L.E., Ultiger R.D.

2. Stockigt J.R. (1996)
Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness.
Clin. Chem. 42 (1); 188-192.

3. Fisher D.A. (1996)
Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations.
Clin. Chem. 42 (1); 135-139.

4. Nelson J.C. and Wilcox R.B. (1996)
Analytical performance of free and total thyroxine assays.
Clin. Chem. 42 (1); 146-154.

5. Robbins, J. (1973)
Radioassay and Thyroid Gland.
Metabolism, 22 (8) : 1021.

XVIII. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (µl)	CALIBRA- TEURS (µl)	ECHANTILLON(S) CONTROLES (µl)
Calibrateurs (0 à 5)	-	20	-
Echantillons, contrôles	-	-	20
Traceur	200	200	200
Anti-T4	-	100	100
Incubation	1 heure à température ambiante sous agitation continue.		
Séparation Solution de Lavage Séparation	-	Aspiration (ou décantage) 2,0 ml Aspiration (ou décantage)	
Comptage (radioactivité)	Temps de comptage des tubes : 60 secondes		

Numéro de catalogue DIAsource : KIP1641	Numéro de P.I.: 1700581/fr	Numéro de révision : 090424/1
--	-------------------------------	----------------------------------



de

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

T4-RIA-CT

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem Thyroxin (T4) in Serum.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

A. Handelsbezeichnung : DIAsource T4-RIA-CT Kit

B. Katalognummer :
KIP1641 : 96 Tests
KIP1644: 4 x 96 Tests

C. Hergestellt von :
DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. KLINISCHER HINTERGRUND

A. Biologische Aktivität

L-Thyroxin (T4) ist ein Hormon, das in der Schilddrüse synthetisiert und gespeichert wird. Die proteolytische Aufspaltung von follikulärem Thyroglobin setzt T4 in den Blutkreislauf frei. Mehr als 99% des T4 ist reversibel an die 3 Plasmaproteine im Blut gebunden- Thyroxin bindendes Globulin (TGB) bindet 70%, Thyroxin bindendes Präalbumin (TBA) bindet 20 % und Albumin bindet 10%. Ungefähr 0,03% des T4 befinden sich zu jeder Zeit frei und ungebunden im Blut.

B. Klinische Anwendungen

Krankheiten, die die Schilddrüsenfunktion beeinflussen können einen weiten Bereich verwirrender Symptome hervorrufen. Die Messung von Gesamt T4 im Immunassay ist der am besten verlässliche und geeignete Screeningtest, um das Vorhandensein von Schilddrüsenstörungen bei Patienten festzustellen. Erhöhte Spiegel von T4 wurden bei Schilddrüsenüberfunktion infolge von Grave's Erkrankung, Plummer's Erkrankung und bei akuter und weniger akuter Thyroiditis gefunden. Niedrige Spiegel von T4 wurden mit angeborener Schilddrüsenunterfunktion, Myxödem , chronischer Thyroiditis (Hashimoto's Syndrom) und mit einigen genetischen Abnormitäten verknüpft.

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Eine bestimmte Menge an ¹²⁵I markiertem T4 konkurriert mit dem zu messenden T4 der Probe oder des Kalibrators um die festgelegte Menge an Anti-T4 Antikörperbindungsstellen des Ziege Anti-Maus Antikörpers, der an die Wand der Polystyrolröhre gebunden ist. Nach 1 Stunde Inkubation bei Raumtemperatur, beendet das Absaugen die Verdrängungsreaktion. Die Röhrchen werden anschliessend mit 2 ml Waschlösung gewaschen, danach wird nochmals abgesaugt. Eine Standardkurve wird gedruckt und die T4-Konzentrationen der Proben werden über Dosis Interpolation der Kalibrationskurve bestimmt.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenz	96 Test Kit	4 x 96 Test Kit	Farbcode	Rekonstitution			
 Mit GAM (Ziege Anti-Maus) beschichtete Röhrchen	2 x 48	8 x 48	Schwarz	gebrauchsfertig			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iod-markiertes T4 (HPLC grade) in Phosphatpuffer mit Rinder-casein und Azid (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 Gefäß 21 ml 111 kBq	4 Gefäße 21 ml 4x111 kBq	Rot	gebrauchsfertig	
Ag	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Null-Kalibrator: Humanserum, Gentamycin und Thymol	CAL	0	1 Gefäß lyophilisiert	2 Gefäße lyophilisiert	Gelb	0,5 ml destilliertem Wasser zugeben	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratoren - N = 1 bis 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Humanserum, Gentamycin und Thymol	CAL	N	5 Gefäße lyophilisiert	10 Gefäße lyophilisiert	Gelb	0,5 ml destilliertem Wasser zugeben	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ab</td></tr></table> Anti-T4 Antikörper (monoclonal) in Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin und Thymol	Ab	1 Gefäß lyophilisiert	4 Gefäße lyophilisiert	Blau	11 ml dest. Wasser zugeben		
Ab							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	4 Gefäße 10 ml	Braun	70x mit destilliertem Wasser (Magnetrührer verwenden) verdünnen
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 oder 2 in Humanserum mit Gentamycin und Thymol	CONTROL	N	2 vials lyophilisiert	4 Gefäße lyophilisiert	Silber	0,5 ml destilliertem Wasser zugeben	
CONTROL	N						

Achtung: Benutzen Sie den Null-Kalibrator zur Serumverdünnung

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

- 1. Dest. Wasser
- 2. Pipetten: 20 µl, 100 µl, 200 µl und 500 µl (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen wird empfohlen)
- 3. Vortexmixer
- 4. Magnetrührer
- 5. RöhrchenSchüttler
- 6. 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
- 7. Absaugsystem (optional)
- 8. Jeder Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. (minimale Ausbeute 70%)

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. **Kalibratoren:** Rekonstituieren Sie die Kalibratoren mit 0,5 ml destilliertem Wasser.
- B. **Kontrollen:** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml destilliertem Wasser.
- C. **Anti-T4:** Rekonstituieren Sie das Anti T3 mit 11 ml destilliertem Wasser.
- D. **Waschlösung:** Zur Vorbereitung eines angemessenen Volumens nutzbarer Waschlösung, mischen Sie zu einem Volumen Waschlösung (70x) 69

Volumen destilliertes Wasser. Benutzen Sie einen Magnetrührer. Entsorgen Sie nach jedem Arbeitstag die überflüssige Waschlösung.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen und Rekonstituieren sind alle Kitkomponenten bei 2 bis 8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren und Kontrollen eine Woche bei 2 bis 8°C stabil. Für eine längere Aufbewahrung sollten diese Reagenzien aliquotiert und bei -20°C eingefroren werden während max. 3 Monaten. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Nach der Rekonstituierung sind die Anti T4 Antikörper für 6 Wochen bei 2-8°C stabil. **NICHT EINFRIEREN.**
- Die Waschlösung sollte frisch hergestellt und am selben Tag aufgebraucht werden.
- Wenn der Tracer nach der ersten Benutzung wieder im gutverschlossenen Originalgefäß bei 2 bis 8°C aufbewahrt wird, ist er bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können auf Instabilität bzw. Zerfall hindeuten.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serumproben müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, müssen die Proben bei -20°C aufgehoben werden.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

DURCHFÜHRUNG

- A. **Bemerkungen zur Durchführung**
Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach dem Verfallsdatum.
Vermischen Sie nie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen.
Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.
Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren.
Verwenden Sie saubere Einwegpipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden. Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision.
Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.
Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrationskurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

- B. **Durchführung**
1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Kontrolle und jede Probe. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
2. Vortexen Sie Kalibratoren, Kontrollen und Proben kurz und geben Sie 20 µl von jedem in ihre Röhrchen.
3. Geben Sie 200 µl des ¹²⁵Iod-markierten T4 in jedes Röhrchen, einschließlich der unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtaktivität.
4. Dispensieren Sie 100µl Anti T4 in jedes Röhrchen mit Ausnahme der Röhrchen für die Gesamtaktivität.
5. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
6. Inkubieren Sie 1 Stunde bei Raumtemperatur unter kontinuierlichem Schütteln.
7. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
8. Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
9. Lassen Sie die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen, und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
10. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter über 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- 1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- 2. Berechnen Sie die gebundene Radioaktivität als Prozentsatz des am Null-Kalibratorpunkt (0) bestimmten Wertes nach folgender Formel:
$$B/B0 (\%) = \frac{\text{Aktivität (Kalibrator oder Probe)}}{\text{Aktivität (Null-Kalibrator)}} \times 100$$
- 3. Verwenden Sie semi-logarithmisches oder doppelt-logarithmisches Millimeterpapier (über 3 Größenordnungen), tragen Sie die (B/B0(%))-Werte für jeden Kalibratorpunkt ein als Funktion der T4 Konzentration für jeden Kalibratorpunkt. Schließen Sie offensichtliche ‚Ausreißer‘ aus.
- 4. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer, 4 Parameter‘-Kurvenfunktion.

5. Bestimmen Sie die T4 Konzentrationen der Proben durch Interpolation der Probenwerte (B/B0(%)) aus der Referenzkurve.
6. Bei jedem Assay muss der Prozentsatz des gesamten gebundenen Tracers ohne unmarkiertes T4 (B0/T) geprüft werden

XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitkalibrationskurve verwendet werden.

T4	cpm	B/Bo (%)
Gesamtaktivität	32598	B/B0
Kalibrator		
0 nmol/l	12661	100,0
12,8 nmol/l	11434	90,3
32 nmol/l	8460	66,8
80 nmol/l	4554	36,0
200 nmol/l	2020	16,0
500 nmol/l	932	7,4

XII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

A. Nachweisgrenze

Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen. Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen unterhalb des gemessenen Durchschnittswerts bei Nullbindung, entsprach < 5 nmol/l.

B. Spezifität

Der Prozentsatz der Kreuzreaktion, der im Vergleich der Konzentration geschätzt wurde, welche eine 50%ige Inhibition ergibt, beträgt respektive:

Substanz	Kreuzreaktivität (%)
L-Thyroxin (L-T4)	100
D-Thyroxin (D-T4)	48
L-3,3',5-Trijodthyronin (L-T3)	1,01
3,3',5'-Trijodthyronin (rT3)	7

Bemerkung: Diese Tabelle zeigt die Kreuzreaktivität für die anti T4

C. Präzision

INTRA-ASSAY PRÄZISION				INTER-ASSAY PRÄZISION			
Serum	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)
A	10	32,4 ± 1,8	5,6	A	18	32,7 ± 2,1	6,5
B	10	183,8 ± 5,9	3,2	B	20	235,3 ± 15,2	6,5

SD: Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

VERDÜNNUNGSTEST			
Probe	Verdünnung	Theoretische Konz. (nmol/l)	Gemessene Konz. (nmol/l)
A	1/1	-	425
	1/2	212,5	194,3
	1/4	106,3	89,1
	1/8	53,1	48,8
	1/16	26,6	22,5

Die Proben wurden mit Null-Kalibrator verdünnt.

WIEDERFINDUNGSTEST			
Probe	Zug. T4 (nmol/l)	Wiedergef. T4 (nmol/l)	Wiedergefunden (%)
1	32,2	27,1	84%
	64,4	67,8	105%
	128,7	132,6	103%
	257,4	290,5	113%
	386,1	444,8	115%

Laut unserem Wissen, gibt es keine internationale Referenzen zu diesen Parametern.

E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im Folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann gewährleistet ist, wenn die Probe 60 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugegeben wird.

ZEITDIFFERENZ				
Serum nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	46,5	43,0	38,6	36,4
C 2	202,5	212,6	207,3	201,0

XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

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

XV. ZU ERWARTENDER BEREICH

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln. Die T4 Konzentrationen für unbehandelte euthyroide Personen (n=298) liegen zwischen 60 bis 157 nmol/L. Das Spektrum wird von 2,5% bis 97,5% dargestellt.

XVI. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für *in vitro* diagnostische Zwecke. Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern.

Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in den USA erprobten FDA-Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAg, anti-HCV und anti-HIV-1 und -2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit darüber liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien oder Serumproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde. Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potentiell ansteckend behandelt werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflüßrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschriffe den Abfluß gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und ver wenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Tragen Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

XVII. LITERATUR

1. Davis J.P. (1991)
Cellular actions of thyroid hormones.
The Thyroid. 190-230. 6th ed. Braverman L.E., Ultiger R.D.

2. Stockigt J.R. (1996)
Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness.
Clin. Chem. 42 (1); 188-192.

3. Fisher D.A. (1996)
Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations.
Clin. Chem. 42 (1); 135-139.

4. Nelson J.C. and Wilcox R.B. (1996)
Analytical performance of free and total thyroxine assays.
Clin. Chem. 42 (1); 146-154.

5. Robbins, J. (1973)
Radioassay and Thyroid Gland.
Metabolism, 22 (8) : 1021.

XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT- AKTIVITÄT (µl)	KALIBRA- TOREN (µl)	PROBE(N)- KONTROL LEN (µl)
Kalibratoren (0 to 5)	-	20	-
Proben, Kontrollen	-	-	20
Tracer	200	200	200
Anti-T4	-	100	100
Inkubation	1 Stunde bei Raumtemperatur unter permanentem Schütteln		
Separation	-	Absaugen (oder dekantieren)	
Waschlösung		2,0 ml	
Separation		Absaugen (oder dekantieren)	
Auswertung	Messen der Röhrchen 60 Sekunden		

DIAsource Katalognummer: KIP1641	Beipackzettelnummer: 1700581/de	Nummer der Originalausgabe: 090424/1
-------------------------------------	------------------------------------	--

Prima di utilizzare il kit leggere attentamente le istruzioni per l'uso

T4-RIA-CT

I. USO DEL KIT

Kit radioimmunologico per la determinazione quantitativa in vitro della Tiroxina umana (T4) in siero.

II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE

- A. Nome commerciale:** DIASource T3-RIA-CT Kit
- B. Numero di catalogo:** KIP1641: 96 test
KIP1644: 4 x 96 test
- C. Prodotto da:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:

Tel: +32 (0) 67 88.99.99

Fax: +32 (0) 67 88.99.96

III. INFORMAZIONI CLINICHE

A. Attività biologiche

La L-Tiroxina (T4) è un ormone che viene prodotto e immagazzinato nella ghiandola tiroidea. Il clivaggio proteolitico della tireoglobulina follicolare libera T4 nel flusso sanguigno. Nel sangue, più del 99% di T4 si trova reversibilmente legato a tre plasmoproteine – la globulina legante la tiroxina (TBG) per il 70%, la prealbumina legante la tiroxina (TBA) per il 20% e l'albumina per il 10%. In circolo, la T4 si trova in forma libera non legata approssimativamente in una percentuale dello 0,03%.

B. Applicazioni cliniche

Le patologie a carico della ghiandola tiroidea sono accompagnate da una sintomatologia variegata e poco chiara. La determinazione dei livelli di T4 totale mediante immunodosaggio costituisce attualmente il più attendibile e comodo test di screening disponibile per individuare la presenza di eventuali disordini tiroidei. Un aumento dei livelli di T4 è riscontrabile in casi di ipertiroidismo causato da morbo di Graves e morbo di Plummer e di tiroidite acuta e subacuta. Livelli ridotti di T4 risultano invece associati con ipotiroidismo congenito, mixedema, tiroidite cronica (tiroidite di Hashimoto) e con alcune alterazioni genetiche.

IV. PRINCIPIO DEL METODO

Una quantità fissa di T4 marcato con ¹²⁵I compete con il T4 da quantificare presente nel campione o nel calibratore, per una quantità fissa di siti anticorpali anti-T4 legati ad anticorpi di capra anti-topo (GAM) adesi alla parete di provette di polistirene. Dopo un'incubazione di un'ora a temperatura ambiente, la fase di aspirazione pone termine alla reazione di competizione. Le provette vengono quindi lavate con 2 ml di soluzione di lavaggio e nuovamente aspirate. Viene quindi tracciata la curva di calibrazione, da cui per interpolazione si ottengono i valori di concentrazione di T4 nei campioni.

V. REATTIVI FORNITI

Reattivi	Kit da 96 test	Kit da 4 x 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione
 Provette sensibilizzate con GAM (capra anti-topo)	2 x 48	8 x 48	nero	Pronte per l'uso
Ag ¹²⁵I Marcato: T4 marcato con ¹²⁵ I (grado HPLC), in tampone fosfato con caseina bovina e sodio azide (<0,1%)	1 flacone 21 ml 111 kBq	4 flaconi 21 ml 4x111 kBq	rosso	Pronte per l'uso
CAL 0 Calibratore Zero in siero umano, gentamicina e timolo	1 flacone Liofiliz.	2 flaconi Liofiliz.	giallo	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata
CAL N Calibratori N. 1-5 (vedi valori esatti sulle etichette dei flaconi) in siero umano, gentamicina e timolo	5 flaconi Liofiliz.	10 flaconi Liofiliz.	giallo	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata
Ab Anticorpi anti-T4 (monoclonali) in tampone fosfato con albumina di siero bovino e timolo	1 flacone Liofiliz.	4 flaconi Liofiliz.	blu	Aggiungere 11 ml di acqua distillata
WASH SOLN CONC Wash solution (TRIS-HCl)	1 flacone 10 ml	4 flaconi 10 ml	bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
CONTROL N Controlli: N = 1 o 2, in siero umano con gentamicina e timolo	2 flaconi Liofiliz.	4 flaconi Liofiliz.	argento	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata

Nota : Per la diluizione, utilizzare il calibratore Zero.

VI. REATTIVI NON FORNITI

- Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.
- Acqua distillata.
 - Pipette per dispensare 20 µl, 100 µl, 200 µl e 500 µl (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
 - Agitatore tipo vortex.
 - Agitatore magnetico.
 - Agitatore rotante (700rpm)
 - Pipetta a ripetizione automatica 5 ml per i lavaggi. (Tipo Cornwell)
 - Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
 - Contatore gamma con finestra per ¹²⁵I (efficienza minima 70%)

VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- A. **Calibratore:** Ricostituire i calibratori con 0,5 ml di acqua distillata.
- B. **Controlli:** Ricostituire i controlli con 0,5 ml di acqua distillata.
- C. **Anti-T4:** Ricostituire l'anti-T4 con 11 ml di acqua distillata.
- D. **Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 69 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (70x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

VIII. CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- I reattivi non utilizzati sono stabili a 2-8°C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- Dopo recostituzione, calibratore e controlli sono stabili 7 giorni a 2-8°C e suddivisi in aliquote a -20°C per periodi più lunghi per 3 mesi. Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelamento.
- Dopo ricostituzione, gli anticorpi anti-T4 rimangono stabili per 6 settimane a 2-8°C. **NON CONGELARE.**
- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Dopo apertura del flacone, il marcato è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato a 2-8°C nel flacone originale ben tappato.
- Alterazioni dell'aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

IX. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Conservare i campioni di siero a 2-8°C.
- Se non si desidera eseguire il dosaggio entro 24 ore dal prelievo, si raccomanda di conservare i campioni a -20°C.
- Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelamento dei campioni.

X. METODO DEL DOSAGGIO

- A. **Avvertenze generali**
Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare reattivi di lotti diversi. Prima dell'uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente. Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione. Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione. L'uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio. Rispettare i tempi di incubazione. Allestire una curva di taratura per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di taratura di sedute analitiche precedenti.

- C. **Metodo del dosaggio**
- Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplicato ogni calibratore, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.
 - Agitare brevemente su vortex calibratore, campioni e controlli. Dispensare 20 µl di calibratore, campioni e controlli nelle rispettive provette.
 - Dispensare 200 µl di T4 marcato con ¹²⁵I in tutte le provette, comprese quelle per l'attività totale.
 - Distribuire 100 µl di anti-T4 in ogni provetta, escluse quelle per l'attività totale
 - Scuotere gentilmente il portaprovette per liberare eventuali bolle d'aria intrappolate nel liquido contenuto nelle provette.
 - Incubare per un'ora a temperatura ambiente su agitatore.
 - Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale, facendo attenzione che il puntale dell'aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
 - Lavare tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
 - Lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
 - Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

- Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
- Calcolare la radiattività legata come percentuale di legame determinata al punto di calibrazione zero (0) secondo la seguente formula:

$$B/B0 (\%) = \frac{\text{cpm (Calibratore, campioni o controlli)}}{\text{cpm (Zero Calibratore)}} \times 100$$

- Usando carta semilogaritmica a 3 cicli o logit-log e ponendo in ordinata i rapporti di competizione. B/B0 (%) per ogni calibratore e in ascissa le rispettive concentrazioni di T4, tracciare la curva di taratura, scartare i valori palesemente discordanti.
- È possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.
- Per interpolazione sulla curva di taratura dei rapporti di competizione di campioni e controlli, determinare le rispettive concentrazioni di T4.
- Per ogni dosaggio determinare la capacità legante B0/T.

XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

I sotto riportati sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di T4 in campioni e controlli al posto della curva calibratore eseguita contemporaneamente.

T4		cpm	B/Bo (%)
Attività totale		32598	B/B0
Calibratore	0 nmol/l	12661	100,0
	12,8 nmol/l	11434	90,3
	32 nmol/l	8460	66,8
	80 nmol/l	4554	36,0
	200 nmol/l	2020	16,0
	500 nmol/l	932	7,4

XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

A. Sensibilità

La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con cpm pari alla media meno 2 deviazioni calibratore di 20 replicati dello calibratore zero, è risultata essere < 5 nmol/l.

B. Specificità

Le percentuali di cross-reattività stimata rispetto alla concentrazione in grado di produrre un’inibizione al 50% sono rispettivamente:

Composto	Cross-Reattività (%)
L- thyoxine (L-T4)	100
D-thyroxine (D-T4)	48
L-3,3',5 - triiodothyronine (L-T3)	1,01
L-3,3',5' - triiodothyronine (rT3)	7

Nota : questa tabella mostra la cross-reattività relativa all’anti T4.

C. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	<X> ± SD (nmol/L)	CV (%)	Siero	N	<X> ± SD (nmol/L)	CV (%)
A	10	32,4 ± 1,8	5,6	A	10	32,7 ± 2,1	6,5
B	10	183,8 ± 5,9	3,2	B	10	235,3 ± 15,2	6,5

SD : Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

D. Accuratezza

TEST DI DILUIZIONE			
Campione	Diluizione	Concentrazione teorica (nmol/L)	Concentrazione misurata (ng/ml)
A	1/1	-	425
	1/2	212,5	194,3
	1/4	106,3	89,1
	1/8	53,1	48,8
	1/16	26,6	22,5

I campioni sono stati diluiti con calibratore zero.

TEST DI RECUPERO			
Campione	T4 aggiunto (nmol/L)	T4 recuperato (nmol/L)	Recupero (%)
1	32,2	27,1	84%
	64,4	67,8	105%
	128,7	132,6	103%
	257,4	290,5	113%
	386,1	444,8	115%

A quanto risulta, non esiste alcun riferimento internazionale per tale parametro.

E. Tempo trascorso tra l’aggiunta dell’ultimo calibratore e il campione

Come mostrato nella seguente tabella, il dosaggio si mantiene accurato anche quando un campione viene aggiunto nelle provette sensibilizzate 60 minuti dopo l’aggiunta del calibratore.

TEMPO TRASCORSO				
Siero nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	46,5	43,0	38,6	36,4
C 2	202,5	212,6	207,3	201,0

XIV. CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO

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

XV. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Questi valori sono puramente indicativi, ciascun laboratorio potrà stabilire i propri intervalli normali.

Le concentrazioni di T4 in soggetti eutiroidi non trattati (n=298) variavano da 60 a 157 nmol/l. I range sono espressi come percentili da 2,5% a 97,5%.

XVI. PRECAUZIONI PER L’USO

Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro.

Il kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35,5 keV) ionizzanti.

L’acquisto, la detenzione, l’utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all’uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l’uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori. I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.

Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E’ comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni.

Evitare ogni contatto dell’epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

XVII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1.

DAUGHADAY W.H. and ROTWEIN P. (1989)
Insulin-like growth factors I and II. peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations.
Endocrine Rev., 10(1) : 68-91.

2.

FROESCH E.R. and ZAPF J. (1985)
Insulin-like growth factors and insulin : comparative aspects.
Diabetologia, 28 : 485-493.

3.

FURLANETTO R.W., UNDERWOOD L., VAN WYK J.J., D'ERCOLE A.J. (1977)
Estimation of spmatomedin-C levels in normals and patients with pituitary disease by radioimmunoassay.
J. Clin. Invest. 60 : 648.

4.

ROSENFELD R.G., WILSON D.M., LEE P.D.K. and HINTZ R.L. (1986)
Insulin-like growth factors I and II in evaluation of growth retardation.
J. Pediatr., 109 : 428.

5.

RUDMAN D., KUTNER M.H. and CHAWLA R.K. (1985)
The short child with subnormal plasma somatomedin-C.
Pediatric Res., 19(10) : 975-980.

6.

ALBERTSSON-WIKLAND K. and HALL K. (1987)
Growth hormone treatment in short children : relationship between growth and serum insulin-like growth factor I and II levels.
J. Clin. Endocrinol Metab., 65 : 671.

7.

WASS J.A.H., CLEMMONS D.R., UNDERWOOD L.E., BARROW L., BESSER G.M. and VAN WYK J.J. (1982)
Changes in circulating somatomedin-C levels in bromocriptine treated acromegaly.
Clin. Endocrinol., 17 : 369-377.

8.

DAUGHADAY W.H., MARIZ I.K. and BLETHEN S.L. (1980)
Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites - a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol extracted serum.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 51 : 781.

9.

BREIERB.H., GALLAHER B.W. and GLUCKMAN P.D. (1991)
Radioimmunoassay for insulin-like growth factor-I : solutions to some potential problems and pitfalls.
Journal of Endocrinology, 128 : 347-357.

10.

SCHOUTEN J.S.A.G. and al. (1993)
IGF1 : a prognostic factor of knee osteoarthritis.
British J. Rheumatol., 32 : 274-280.

11.

GRONBAEK H., SKJAERBAEK C., NIELSEN B., FRYSTYK J., FOEGH M.L., FLYVBJERG A., ORSKOV H. (1995)
Growth hormone and insulin-like growth factor-I: a suggested role in renal transplantation and graft vessel disease.
Transplant. Proceed., 27/3 : 2133-2136.

12.

TSITOURAS P.D., ZHONG Y.G., SPUNGEN A.M., BAUMAN W.A. (1995)
Serum testosterone and growth hormone insulin-like growth factor-I in adults with spinal cord injury.
Hormone and metabolic Research , 27/6 : 287-292.

13.

KOCH A., DORR H.G., GERLING S., BEHRENS R., BOHLES H.J. (1995)
Effect of growth hormone on IDF-I levels in patients with growth hormone deficiency and Wilson disease.
Hormone Research, 44/1 : 40-44.

XVIII. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	Attività totale ml	Calibratore ml	Campioni Controlli ml
Calibratore (0-5)	-	20	-
Campioni, Controlli	-	-	20
Marcato	200	200	200
Anti T4	-	100	100
Incubazione	60 minuti a temperatura ambiente su agitatore		
Separazione		Aspirare (o decantare) 2,0 ml	
Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio		Aspirare (o decantare)	
Separazione			
Conteggio	Contare le provette per 1 minuto		

Numero di catalogo di DIAsource : KIP1641	P.I. numero : 1700581/it	Revisione numero : 090424/1
--	-----------------------------	--------------------------------

Data di revisione : 2009-04-24

Leer el protocolo completo antes de usar.

T4-RIA-CT

I. INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de tiroxina (T4) humana en suero.

II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. Nombre:** DIAsource T4-RIA-CT Kit
- B. Número de Catálogo:** KIP1641 : 96 pruebas
KIP1644 : 4 x 96 pruebas
- C. Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Para cuestiones técnicas e información sobre pedidos contactar :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. INFORMACIÓN CLÍNICA

A. Actividad biológica

La L-tiroxina (T4) es una hormona sintetizada y almacenada en la glándula tiroides. El corte proteolítico de la tiroglobulina folicular libera T4 al torrente sanguíneo. Más del 99% de T4 se une reversiblemente a tres proteínas plasmáticas de la sangre, la globulina de unión a tiroxina (TBG) une el 70%, la prealbúmina de unión a tiroxina (TBA) une el 20%, y la albúmina une el 10%. Aproximadamente el 0,03% de la T4 está en forma libre, sin estar unida a ninguna proteína de la sangre en ningún momento.

B. Aplicaciones clínicas

Las enfermedades que afectan a la función tiroidea pueden presentar una gran variedad de síntomas confusos. La medición de T4 total mediante inmunoensayo es el método de diagnóstico precoz más fiable y práctico disponible para determinar la presencia de trastornos tiroideos en los pacientes. En casos de hipertiroidismo provocados por la enfermedad de Grave o por la enfermedad de Plummer y en tiroiditis agudas y subagudas se han detectado mayores niveles de T4. Los bajos niveles de T4 están asociados con hipotiroidismo congénito, mixedema, tiroiditis crónica (enfermedad de Hashimoto) y con algunas anomalías genéticas.

IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

Una cantidad fija de T4 marcada con I¹²⁵ compite con el T4 a medir, presente en la muestra o en el calibrador, para una cantidad fija de sitios de anticuerpo anti-T4, que se unen a los anticuerpos de cabra anti-ratón (GAM), inmovilizado en las paredes de un tubo de poliestireno. Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente, una aspiración termina con la reacción de competición. Los tubos se lavan con 2 ml de Solución de lavado y se aspiran otra vez. Se dibuja la curva de calibración y las concentraciones de T4 de las muestras se determinan por interpolación de la dosis en la curva de calibración.

V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	Kit 96 pruebas	Kit 4 x 96 pruebas	Código de Color	Reconstrucción			
 Tubos recubiertos con GAM (cabra anti- ratón)	2 x 48	8 x 48	negro	Listo para uso			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRAZADOR: T4 marcado con I ¹²⁵ (grado HPLC) en tampón fosfato con caseína bovina y azida (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 vial 21 ml 111 kBq	4 viales 21 ml 4x111kBq	rojo	Listo para uso	
Ag	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrador cero en suero humano con gentamicina y timol	CAL	0	1 vial lío­filiza­do	2 viales lío­filiza­dos	amarillo	Añadir 0,5 ml de agua destilada	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibradores - N = 1 al 5 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero humano con gentamicina y timol	CAL	N	5 viales lío­filiza­do	10 viales lío­filiza­dos	amarillo	Añadir 0,5 ml de agua destilada	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ab</td></tr></table> Anticuerpos anti-T4 (monoclonales) en tampón fosfato con albúmina de suero bovino y timol	Ab	1 vial lío­filiza­do	4 viales lío­filiza­dos	azul	Añadir 11 ml de agua destilada		
Ab							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solución de lavado (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	4 viales 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 ó 2 en suero humano con timol y gentamicina	CONTROL	N	2 viales lío­filiza­do	4 viales lío­filiza­dos	plateado	Añadir 0,5 ml de agua destilada	
CONTROL	N						

Nota: Para diluciones de muestras utilizar calibrador cero.

VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

- El material mencionado a continuación es necesario y no esta incluido en el kit
- Agua destilada
 - Pipetas de 20 µl, 100 µl, 200 µl y 500 µl (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
 - Vortex
 - Agitador magnético
 - Agitador de tubos
 - Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
 - Sistema de aspiración (opcional)
 - Contador de radiaciones gamma para medir I¹²⁵ (mínima eficiencia 70%)

VII. PREPARACIÓN REACTIVOS

- Calibradores:** Reconstituir los calibradores con 0,5 ml de agua destilada.
- Controles:** Reconstituir los controles con 0,5 ml de agua destilada.
- Anti-T4:** Reconstituir el anti-T4 con 11 ml de agua destilada.
- Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir o reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8 °C.
- Después de su reconstitución los calibradores y controles son estables durante una semana a 2-8 °C. Para periodos más largos, alicuotar y guardar a -20 °C. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- Después de la reconstitución, los anticuerpos anti-T4 son estables durante 6 semanas a 2-8 °C. **NO CONGELAR.**
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Después del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2-8 °C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad o deterioro.

IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero deben ser guardadas a 2-8 °C.
- Si el ensayo no se realiza en 24 hrs., almacenar las muestras a -20°.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

X. PROTOCOLO

- A. Notas de manejo**
- No utilizar el kit o componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente número de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.
- Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra.
- El uso de pipetas de precisión o equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación.
- Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

- B. Protocolo**
- Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
 - Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 20 µl de cada uno en sus respectivos tubos.
 - Dispensar 200 µl de T4 marcado con I¹²⁵ en cada tubo, incluyendo los tubos no recubiertos a las Cuentas Totales.
 - Dispensar 100 µl de anti-T4 en cada tubo, salvo en los tubos de recuento total.
 - Agitar suavemente la gradilla de tubos para soltar cualquier burbuja cautiva de las paredes de los tubos.
 - Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación continua.
 - Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
 - Lavar los tubos con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado
 - Dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el líquido restante.
 - Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

XI. CALCULO DE RESULTADOS

- Calcular la media de los duplicados.
- Calcular la radiactividad enlazada como un porcentaje de la unión con respecto al calibrador cero (0) de acuerdo con la siguiente formula:

- $$B/B0(\%) = \frac{\text{Cuentas (Calibrador ó muestra)}}{\text{Cuentas (Calibrador Cero)}} \times 100$$
- Utilizando papel 3 ciclo semilogarítmico o logit-log, representar los valores de (B/B0%) de cada calibrador frente a las contracciones del T4 de cada calibrador, rechazando los extremos claros.
 - Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de cálculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica “ 4 parámetros”.
 - Por interpolación de los valores (B/B%) de las muestras, se determinan los valores de las concentraciones del T4 de las mismas desde la curva de calibración.
 - El porcentaje total de enlace del trazador en ausencia de T4 no marcado (B0/T) debe ser calculado en cada ensayo.

XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

T4	cpm	B/Bo (%)
Cuentas Totales	32598	B/Bo
Calibrador		
0 nmol/l	12661	100,0
12,8 nmol/l	11434	90,3
32 nmol/l	8460	66,8
80 nmol/l	4554	36,0
200 nmol/l	2020	16,0
500 nmol/l	932	7,4

XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

A. Limite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores.
El limite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares debajo de la media de enlace del calibrador cero, fue < 5 nmol/l.

B. Especificidad

El porcentaje de reacción cruzada estimada por la comparación de la concentración (indicando una inhibición de 50 %) es respectivamente :

Componente	Reacción-cruzada (%)
L- tiroxina (L-T4)	100
D-tiroxina (D-T4)	48
L-3,3',5 - triyodotironina (L-T3)	1,01
3,3',5' - triyodotironina (rT3)	7

Nota: Esta tabla presenta la reacción cruzada para el anti T4

C. Precisión

PRECISION INTRA-ENSAYO				PRECISIÓN INTER-ENSAYO			
Suero	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Suero	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)
A	10	32,4 ± 1,8	5,6	A	18	32,7 ± 2,1	6,5
B	10	183,8 ± 5,9	3,2	B	20	235,3 ± 15,2	6,5

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

D. Exactitud

PRUEBA DE DILUCIÓN			
Muestra	Dilución	Concent. Teórica (nmol/l)	Concent. Medida (µg/dl)
A	1/1	-	425
	1/2	212,5	194,3
	1/4	106,3	89,1
	1/8	53,1	48,8
	1/16	26,6	22,5

Las muestras fueron diluidas con el Calibrador cero.

PRUEBA DE RECUPERACIÓN			
Muestra	T4 añadido (nmol/l)	T4 Recuperado (nmol/l)	Recuperado (%)
1	32,2	27,1	84%
	64,4	67,8	105%
	128,7	132,6	103%
	257,4	290,5	113%
	386,1	444,8	115%

De acuerdo con nuestros conocimientos, no existe ninguna preparación de referencia internacional de este parámetro.

E. Tiempo de espera entre la dispensación del último calibrador y la de la muestra

Como se muestra a continuación la precisión del ensayo se mantiene incluso en el caso de dispensar la muestra 60 minutos después de haberse adicionado el calibrador a los tubos cubiertos.

TIEMPO DE ESPERA				
Suero (nmol/l)	0'	20'	40'	60'
C 1	46,5	43,0	38,6	36,4
C 2	202,5	212,6	207,3	201,0

XIV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

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

XV. INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.
Las concentraciones de T4 en sujetos eutiroideos sin tratar oscilan entre 60 a 157 nmol/l (n=298).
Alcance basados en percentilos de 2,5% & 97,5%

XVI. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.
Este kit contiene I¹²⁵ (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.
Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.
Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.
Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.
Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido analizados por métodos aprobados por la CEE y/ó la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA u otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.
Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes que contengan sustancias animales deberán ser considerados como potencialmente infecciosos.
Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.
No fumar, beber, comer o utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

XVII. BIBLIOGRAFIA

1.

Davis J.P. (1991)
Cellular actions of thyroid hormones.
The Thyroid. 190-230. 6th ed. Braverman L.E., Ultiger R.D.

2.

Stockigt J.R. (1996)
Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness.
Clin. Chem. 42 (1); 188-192.

3.

Fisher D.A. (1996)
Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations.
Clin. Chem. 42 (1); 135-139.

4.

Nelson J.C. and Wilcox R.B. (1996)
Analytical performance of free and total thyroxine assays.
Clin. Chem. 42 (1); 146-154.

5.

Robbins, J. (1973)
Radioassay and Thyroid Gland.
Metabolism, 22 (8) : 1021.

XVIII. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	RECuentos Totales (µl)	CALIBRADO RES (µl)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (µl)
Calibradores (0 al 5)	-	20	-
Muestras, controles	-	-	20
Trazador	200	200	200
Anti-T4	-	100	100
Incubación	1 hora a temperatura ambiente con agitación continua		
Separación	-	Aspirar (o decantar)	
Solución de lavado de trabajo	-	2,0 ml	
Separación	-	Aspirar (o decantar)	
Recuento	Contar los tubos durante 60 segundos		

DIAsource Catalogo Nr : KIP1641	P.I. Numero : 1700581/es	Revisión nr : 090424/1
------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Fecha de la revisión : 2009-04-24

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

T4-RIA-CT

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ραδιοανοσοπροσδιορισμός για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης θυροξίνης (T4) σε ορό.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. Εμπορική ονομασία: Κιτ T4-RIA-CT της DIAsource
- B. Αριθμός καταλόγου: KIP1641: 96 προσδιορισμοί
KIP1644: 4 x 96 προσδιορισμοί
- Γ. Κατασκευάζεται από την: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)67 88.99.99 Φαξ: +32 (0)67 88.99.96

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A. Βιολογική δράση

Η L-θυροξίνη (T4) είναι μια ορμόνη, η σύνθεση και η αποθήκευση της οποίας γίνεται στο θυρεοειδή αδέν. Η πρωτεολυτική διάσπαση της θυροσφαιρίνης κατά την ωοθυλακική φάση απελευθερώνει T4 στη ροή του αίματος. Ποσοστό άνω του 99% της T4 δεσμεύεται αντιστρεπτά στις τρεις πρωτεΐνες του πλάσματος στο αίμα – η θυροξινόδεσμευτική σφαιρίνη (TGB) δεσμεύει 70%, η θυροξινόδεσμευτική προλευκωματίνη (TBA) δεσμεύει 20% και η λευκωματίνη δεσμεύει 10%. Περίπου 0,03% της T4 είναι σε ελεύθερη, μη δεσμευμένη κατάσταση στο αίμα οποιαδήποτε χρονική στιγμή.

B. Κλινικές εφαρμογές

Παθήσεις που επηρεάζουν τη λειτουργία του θυρεοειδούς ενδέχεται να παρουσιάσουν ένα ευρύ φάσμα συμπτωμάτων που μπορεί να προκαλέσουν σύγχυση ως προς την αιτιολογία τους. Η μέτρηση της ολικής T4 με ανοσοπροσδιορισμό είναι η πιο αξιόπιστη και πιο κατάλληλη εξέταση ελέγχου από αυτές που διατίθενται για να προσδιοριστεί η παρουσία διαταραχών του θυρεοειδούς σε ασθενείς. Αυξημένα επίπεδα T4 έχουν βρεθεί σε υπερθυρεοειδισμό λόγω της νόσου Grave και της νόσου Plummer και σε οξεία και υποξία θυρεοειδίτιδα. Χαμηλά επίπεδα T4 έχουν συσχετιστεί με συγγενή υποθυρεοειδισμό, μυξοίδημα, χρόνια θυρεοειδίτιδα (νόσος Hashimoto) και με μερικές γενετικές ανωμαλίες.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μια σταθερή ποσότητα T4 σημασμένης με ¹²⁵I ανταγωνίζεται με την T4 που θα μετρηθεί, η οποία υπάρχει στο δείγμα ή στο βαθμονομητή, για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων T4, που είναι δεσμευμένα σε αντισώματα αντιποντικού από αίγα (GAM) ακινητοποιημένα στο τοίχωμα ενός σωληναρίου πολυστυρενίου. Μετά από επώαση 1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου, η αντίδραση ανταγωνισμού τερματίζεται με ένα βήμα αναρρόφησης. Τα σωληνάρια κατόπιν πλένονται με 2 ml διαλύματος πλύσης και αναρροφούνται. Παριστάνεται γραφικά μια καμπύλη βαθμονόμησης και προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις του T4 των δειγμάτων με αναγωγή συγκεντρώσεων από την καμπύλη βαθμονόμησης.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 εξετάσε- ων	Κιτ 4 x 96 εξετά- σεων	Χρωμα- τικός κωδι- κός	Ανασύσταση			
 Σωληνάρια επιστρωμένα με GAM (αντισώματα)	2 x 48	8 x 48	μαύρο	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ΙΧΝΗΘΕΤΗΣ: T4 σημασμένη με ¹²⁵ I (κατηγορίας HPLC) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια καζεΐνη και οξίδιο (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 φιαλίδιο 21 ml 111 kBq	4 φιαλίδια 21 ml 4 x 111 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση	
Ag	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Μηδενικός βαθμονομητής σε ανθρώπινο ορό, γενταμικίνη και θυμέλη	CAL	0	1 φιαλίδιο λυοφιλο- ποιημένο	2 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 0.5 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Βαθμονομητές - N = 1 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε ανθρώπινο ορό, γενταμικίνη και θυμέλη	CAL	N	5 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	10 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 0.5 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ab</td></tr></table> Αντι-T4 (μονοκλωνικά) αντισώματα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ορολευκωματίνη και θυμόλη	Ab	1 φιαλίδιο λυοφιλο- ποιημένο	4 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	μπλε	Προσθέστε 11 ml απεσταγμένου νερού		
Ab							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Διάλυμα πλύσης (TRIS- HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	4 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Οροί ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο ορό με γενταμικίνη και θυμόλη	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	4 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	ασημί	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού	
CONTROL	N						

Σημείωση: 1. Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορόν.

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:
- Απεσταγμένο νερό
 - Πιπέτες για διανομή: 20 µl, 100 µl, 200 µl και 500 µl (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
 - Αναμεικτής στροβιλισμού (τύπου vortex)
 - Μαγνητικός αναδευτήρας
 - Αναδευτήρας σωληναρίων (700 rpm)
 - Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
 - Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό)
 - Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε μετρητής γ ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης του ¹²⁵I (ελάχιστη απόδοση 70%).

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. **Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε τους βαθμονομητές με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- B. **Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. **Αντι-T4:** Ανασυστήστε τα αντι-T4 με 11 ml απεσταγμένου νερού.
- Δ. **Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Μετά την ανασύσταση, οι οροί ελέγχου παραμένουν σταθεροί επί 7 ημέρες στους 2-8° C.
Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, θα πρέπει να δημιουργηθούν κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης και να διατηρηθούν σε θερμοκρασία -20° C επί 3 μήνες το μέγιστο. Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Μετά την ανασύσταση, τα αντισώματα αντι-T4 παραμένουν σταθερά για 6 εβδομάδες στους 2-8° C. **ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ.**
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Τα δείγματα ορού πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20° C.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

- A. **Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό**
Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμειξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

- B. **Διαδικασία**
- Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, δείγμα και ορό ελέγχου. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
 - Αναμίξτε για λίγο (με αναμεικτή στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, προαραιωμένα δείγματα και ορούς ελέγχου και διανείμετε 20 µl από έκαστο σε αντίστοιχα σωληνάρια.
 - Διανείμετε 200 µl T4 σημασμένου με ¹²⁵I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβάνοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total") .
 - Διανείμετε 100 µl αντι-T4 σε κάθε σωληνάριο, εκτός από τα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total") .
 - Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
 - Επώαστε για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση.
 - Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.

8. Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
9. Αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
10. Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

I. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

1. Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
2. Υπολογίστε τη δεσμευμένη ραδιενέργεια ως ποσοστό της δέσμευσης που προσδιορίζεται στο σημείο μηδενικού βαθμονομητή (0) σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$B/B0(\%) = \frac{\text{Μετρήσεις (Βαθμονομητής ή δείγμα)}}{\text{Μετρήσεις (Μηδενικός βαθμονομητής)}} \times 100$$

3. Με χρήση ημιλογαριθμικού χαρτιού γραφήματος ή χαρτιού γραφήματος logit-log 3 κύκλων, παραστήστε γραφικά τις τιμές (B/B0(%)) για κάθε σημείο βαθμονομητή ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του T4 για κάθε σημείο βαθμονομητή. Απορρίψτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
4. Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν επίσης μέθοδοι με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.
5. Με αναγωγή των τιμών των δειγμάτων (B/B0 (%)), προσδιορίστε τις συγκεντρώσεις T4 των δειγμάτων από την καμπύλη βαθμονόμησης.
6. Για κάθε προσδιορισμό, πρέπει να ελέγχεται το ποσοστό του συνολικού ιχνηθέτη που δεσμεύεται απουσία του μη σημασμένου T4 (B0/T).

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως παράδειγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

T4	cpm	B/Bo (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵ I ("total")	32598	B/B0
Βαθμονομητής		
0 nmol/l	12661	100,0
12,8 nmol/l	11434	90,3
32 nmol/l	8460	66,8
80 nmol/l	4554	36,0
200 nmol/l	2020	16,0
500 nmol/l	932	7,4

XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- A. Όριο ανίχνευσης
- Υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών.
- Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων κάτω από τις μέσες καταμετρήσεις σε μηδενική δέσμευση, ήταν < 5 nmol/L.

B. Ειδικότητα

Το ποσοστό διασταυρούμενης αντίδρασης, που υπολογίζεται με σύγκριση της συγκέντρωσης που αποδίδει αναστολή 50%, είναι αντίστοιχα:

Ένωση	Διασταυρούμενη αντίδραση (%)
L-θυροξίνη (L-T4)	100
D-θυροξίνη (D-T4)	48
L-3,3',5'-τρίωδοθυρονίνη (L-T3)	1,01
L-3,3',5'-τρίωδοθυρονίνη (rT3)	7

Σημείωση: Στον πίνακα αυτό παρουσιάζεται η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα για την αντι-T4.

Γ. Ακρίβεια

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> ± T.A. (nmol/l)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (nmol/l)	Σ.Δ. (%)
A	10	32,4 ± 1,8	5,6	A	18	32,7 ± 2,1	6,5
B	10	183,8 ± 5,9	3,2	B	20	235,3 ± 15,2	6,5

T.A.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ			
Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (nmol/l)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (nmol/l)
A	1/1	-	425
	1/2	212,5	194,3
	1/4	106,3	89,1
	1/8	53,1	48,8
	1/16	26,6	22,5

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ			
Δείγμα	Προσθεθείς T4 (nmol/l)	Ανακτηθείς T4 (nmol/l)	Ανακτηθείς (%)
1	32,2	27,1	84%
	64,4	67,8	105%
	128,7	132,6	103%
	257,4	290,5	113%
	386,1	444,8	115%

Από όσο είναι δυνατό να γνωρίζουμε, δεν υπάρχει διεθνές υλικό αναφοράς για την παράμετρο αυτή.

E. Μεσοδιάστημα μεταξύ της διανομής τελευταίου βαθμονομητή και δείγματος

Όπως φαίνεται πιο κάτω, η διανομή των δειγμάτων πρέπει να γίνεται εντός διαστήματος 60 λεπτών το μέγιστο μετά τη διανομή του βαθμονομητή.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ				
Ορός nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	46,5	43,0	38,6	36,4
C 2	202,5	212,6	207,3	201,0

XIV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

XV. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές αυτές παρέχονται μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Οι συγκεντρώσεις της T4 για ευθυρεοειδικά άτομα, που δεν έχουν υποβληθεί σε θεραπεία, κυμαίνονταν από 60 έως 157 nmol/l (n=298).

Το εύρος κυμαίνεται από 2,5% έως 97,5%

XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφάλεια

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (28 keV) και γ (35.5 keV).

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

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσότοπων. Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία. Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο κιτ αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HbsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας. Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά. Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο κιτ αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσσώρευσης αζιδίου. Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

XVII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Davis J.P. (1991)
Cellular actions of thyroid hormones.
The Thyroid. 190-230. 6th ed. Braverman L.E., Ultiger R.D.

2. Stockigt J.R. (1996)
Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness.
Clin. Chem. 42 (1); 188-192.

3. Fisher D.A. (1996)
Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations.
Clin. Chem. 42 (1); 135-139.

4. Nelson J.C. and Wilcox R.B. (1996)
Analytical performance of free and total thyroxine assays.
Clin. Chem. 42 (1); 146-154.

5. Robbins, J. (1973)
Radioassay and Thyroid Gland.
Metabolism, 22 (8) : 1021.

XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΚΡΟΥΣΕΙΣ "TOTAL" μl	ΒΑΘΜΟΝΟ ΜΗΤΕΣ μl	ΔΕΙΓΜΑ (ΤΑ) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ μl
Βαθμονομητές (0 έως 5)	-	20	-
Δείγματα, οροί ελέγχου	-	-	20
Ιχνηθέτης	200	200	200
Αντι-T4	-	100	100
Επώαση	1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης εργασίας Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 ml Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP1641	Αριθμός P.I.: 1700581/el	Αρ. αναθεώρησης: 090424/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

ημερομηνία αναθεώρησης : 2009-04-24

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

T4-RIA-CT

I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie radioimmunologiczne do ilościowego pomiaru in vitro ludzkiej tyroksyny (T4) w surowicy.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. Nazwa firmowa:** DIAsource T4-RIA-CT
- B. Numer katalogowy:** KIP1641 : 96 oznaczeń
KIP1644 : 4 x 96 oznaczeń
- C. Wyprodukowano przez:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

III. INFORMACJE KLINICZNE

A. Aktywność biologiczna

L-tyroksyna (T4) jest hormonem syntetyzowanym i przechowywanym w gruczole tarczowym. Aktywność proteolityczna tyreoglobuliny pęcherzykowej prowadzi do uwalniania T4 do krwiobiegu. Ponad 99% T4 jest odwracalnie związane z trzema proteinami osocзовymi występującymi we krwi – globulina wiążąca tyroksynę (TGB) wiąże 70%, prealbumina wiążąca tyroksynę (TBA) wiąże 20% i albumina wiąże 10% hormonu. Około 0,03% T4 występuje zawsze we krwi w postaci wolnej, niezwiązanej.

B. Zastosowanie kliniczne

Choroby wpływające na funkcję tarczycy mogą być powodem wielu mylących objawów. Pomiar T4 metodą immunoenzymatyczną jest najbardziej wiarygodną i wygodną metodą badań przesiewowych w kierunku chorób tarczycy. Podwyższone poziomy T4 można spotkać w nadczynności tarczycy wywołanej chorobą Graves-Basedowa oraz chorobą Plummera i ostrym oraz podostrym zapaleniem tarczycy. Niskie poziomy T4 występują we wrodzonej niedoczynności tarczycy, obrzęku śluzowatym, przewlekłym zapaleniu tarczycy (choroba Hashimoto) oraz niektórych wadach genetycznych.

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

W celu pomiaru T4 w próbce lub w kalibratorze, znana ilość cząsteczek T4 oznakowanych J¹²⁵ współzawodniczy z T4 o określonej ilości miejsc wiążących przeciwciała anty-T4, związanych z przeciwciałami kozimi i mysimi (GAM), unieruchomionymi na ściance próbówki polistyrenowej. Po jednogodzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej reakcja współzawodnictwa jest przerywana przez aspirację. Następnie próbówki są płukane przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczącego i аспиrowane. Wykreślana jest krzywa kalibracyjna a stężenia T4 w próbkach są określane przez interpolację dawki z krzywej kalibracyjnej.

V. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE

Odczynniki	Zestaw 96 oznaczeń	Zestaw 4 x 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstytucja			
 Probówki opłaskczone GAM (kozy i mysie)	2 x 48	8 x 48	czarny	Gotowe do zastosowania			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ZNACZNIK IZOTOPOWY: T4 oznakowany jodem ¹²⁵ (poziom HPLC) w buforze fosforanowym z kazeiną bydlęcą i azydkiem (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 fiołka 21 ml 111 kBq	4 fiołek 21 ml 4x111 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania	
Ag	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Kalibratory zerowe w ludzkiej surowicy, gentamycyna i tymol.	CAL	0	1 fiołka materiał liofilizow any.	2 fiołek materiał liofilizow any	żółty	Dodać 0,5 ml wody destylowanej	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratory - N = od 1 do 5 (dokładne wartości na etykietach fiołek) w ludzkiej surowicy z gentamycyną i tymolem	CAL	N	5 fiołek materiał liofilizow any.	10 fiołek materiał liofilizow any	żółty	Dodać 0,5 ml wody destylowanej	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ab</td></tr></table> Przeciwciała anty-T4 (monoklonalne) w buforze fosforanowym z albuminą z surowicy bydlęcej i tymolem	Ab	1 fiołka materiał liofilizow any	4 fiołek materiał liofilizow any	niebieski	Dodać 11 ml wody destylowanej		
Ab							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 fiołka 10 ml	4 fiołek 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrolne - N = od 1 do 2 w surowicy ludzkiej z gentamycyną i tymolem	CONTROL	N	2 . fiołek materiał liofilizow any	4 fiołek materiał liofilizow any	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej	
CONTROL	N						

Uwaga : Dla rozcieńczeń surowicy należy stosować kalibrator zerowy.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:

- 1. Woda destylowana
- 2. Pipety do dozowania: 20 µl, 100 µl, 200 µl, i 500 µl (zaleca się korzystanie z dokładnych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
- 3. Mieszkło wirowe
- 4. Mieszkło magnetyczne
- 5. Wstrząsarka do próbek (700 rpm)
- 6. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
- 7. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
- 8. Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%)

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kalibratory:** Rekonstruować kalibratory przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- B. **Kontrole:** Kontrole należy rekonstruować przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.

- C. **Anty-T4:** Rekonstruować anty-T4 przy pomocy 11 ml wody destylowanej.
- D. **Roboczy roztwór płuczący:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczącego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczącego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszkło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczący należy wyłączyć pod koniec dniaSolution .

VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstytucją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykiecie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rekonstytucji, kalibratory i kontrole zachowują trwałość przez 1 tydzień, pod warunkiem przechowywania w temperaturze od 2 do 8°C. W celu dłuższego przechowywania, należy zamrozić w małych objętościach. Możliwe jest wówczas przechowywanie przez maksymalnie 3 miesiące, w temperaturze -20°C. Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.
- Po rekonstytucji, przeciwciała anty-T4 są stabilne przez 6 tygodni w temperaturze 2-8°C. **NIE ZAMRAŻAĆ.**
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczący powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znacznik izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiołce w temperaturze od 2 do 8°C.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Próbkę surowicy muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 24 godzin, zaleca się przechowywanie w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.

X. PROCEDURA

- A. **Uwagi dotyczące obsługi**
Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie daty ważności.
Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów.
Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową.
Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie.
Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego, do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste końcówki jednorazowe pipet. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia.
Przestrzegać czasów inkubacji.
Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.

B. Procedura

- 1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontrole należy oznaczyć opłaszczoną próbkę w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 standardowe próbki.
- 2. Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 20 µl każdej substancji do odpowiednich próbek.
- 3. Do każdej próbki, w tym do próbek nieopłaszczonych do całkowitego zliczania, dodać po 200 µl T4 oznakowanego Jodem¹²⁵.
- 4. Do każdej próbki, poza próbkami do całkowitego zliczania dodać 100 µl przeciwciał anty-T4.
- 5. Delikatnie potrząsnąć statywem w celu uwolnienia uwieczonych pęcherzyków powietrza.
- 6. Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej, nieprzerwanie wstrząsając.
- 7. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbki.
- 8. Przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczącego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i aspirować zawartość (lub odlać ją). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczącego należy unikać wytwarzania piany.
- 9. Pozostawić próbki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu.
- 10. Zliczać próbki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

- 1. Obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
- 2. Obliczyć związaną radioaktywność jako odsetek wiązania określonego w zerowym punkcie kalibracji (0) zgodnie z poniższym wzorem:

B/B0(%) = $\frac{\text{Liczba zliczeń(dla kalibratora lub próbki)}}{\text{Liczba zliczeń(dla kalibratora zerowego)}} \times 100$

3. Na 3 arkuszach półlogarytmicznych lub papierze milimetrowym wykreślić wartości (B/B0(%)) dla każdego punktu kalibratora jako funkcję stężenia T4 każdego punktu kalibratora. Odrzucić oczywiste wartości graniczne.
4. Do opracowania krzywej kalibracyjnej mogą być wykorzystane również metody wspomagania komputerowego. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.
5. Nakładając wartości (B/B0 (%)) próbki należy określić stężenia T4 w próbkach z krzywej kalibracyjnej.
6. Dla każdego oznaczenia należy sprawdzić odsetek całkowitego związanego znacznika izotopowego przy braku nieoznakowanego T4 (B0/T).

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

T4	cpm	B/Bo (%)
Zliczanie całkowite	32598	B/B0
Kalibrator		
0 nmol/l	12661	100.0
12.8 nmol/l	11434	90.3
32 nmol/l	8460	66.8
80 nmol/l	4554	36.0
200 nmol/l	2020	16.0
500 nmol/l	932	7.4

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

- A. Granica wykrywania
Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów. Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmienne stężenie dwóch odchyłeń standardowych poniżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym kształtowała się na poziomie < 5 nmol/l.
- B. Swoistość

Odsetki reaktywności krzyżowej uzyskane przez porównanie stężenia uzyskującego 50% hamowanie są następujące:

Składnik	Reaktywność krzyżowa (%)
L- tyroksyna (L-T4)	100
D-tyroksyna (D-T4)	48
L-3,3',5 - trójiodotyronina (L-T3)	1.01
L-3,3',5 - trójiodotyronina (rT3)	7

Uwaga: tabela przedstawia reaktywność krzyżową dla anty-T4

C. Precyzja

PRECYZJA W SERII				PRECYZJA MIĘDZY SERIAMI			
Surowi ca	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Surowi ca	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)
A	10	32.4 ± 1.8	5.6	A	18	32.7 ± 2.1	6.5
B	10	183.8 ± 5.9	3.2	B	20	235.3 ± 15.2	6.5

SD: Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

D. Dokładność

BADANIE ROZCIEŃCZENIA			
Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (nmol/l)	Stęż. zmierzone (nmol/l)
A	1/1	-	425
	1/2	212.5	194.3
	1/4	106.3	89.1
	1/8	53.1	48.8
	1/16	26.6	22.5

Próbki zostały rozcieńczone za pomocą kalibratora zerowego.

BADANIE ODZYSKU

Próbka	Dodano T4 (nmol/l)	Odzyskany T4 (nmol/l)	Odzysk (%)
1	32.2	27.1	84%
	64.4	67.8	105%
	128.7	132.6	103%
	257.4	290.5	113%
	386.1	444.8	115%

Zgodnie z naszą najlepszą wiedzą, dla opisywanego parametru nie istnieją międzynarodowe materiały referencyjne.

- E. Odstęp czasowy pomiędzy dozowaniem ostatniego kalibratora i próbki
Jak tutaj wykazano, wyniki testu pozostają dokładne nawet wówczas, gdy próbka zostanie dozowana w 60 minut po dodaniu do oplaszczonych próbek kalibratora.

ODSTĘP CZASOWY

Surowica nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	46.5	43.0	38.6	36.4
C 2	202.5	212.6	207.3	201.0

XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiolki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

XV. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości są przedstawione wyłącznie w celach orientacyjnych, każde laboratorium powinno opracować własne wartości referencyjne
Stężenia T4 dla nieleczonych osób w eutyreozie (n=298) obejmują zakres od 60 do 157 nmol/l. Zakresy wyrażono jako 2,5% do 97,5% percentyla.

XVI. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki *in vitro*.
Zestaw zawiera ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35.5 keV).
Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.
Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.
Wszelkie plamy z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.
Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anty-HCV, anty-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.
Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydlęce pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania

BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne. Unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołowiem w układzie kanalizacyjnym tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków. Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

XVII. BIBLIOGRAFIA

1. Davis J.P. (1991)
Cellular actions of thyroid hormones.
The Thyroid. 190-230. 6th ed. Braverman L.E., Ultiger R.D.

2. Stockigt J.R. (1996)
Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness.
Clin. Chem. 42 (1); 188-192.

3. Fisher D.A. (1996)
Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations.
Clin. Chem. 42 (1); 135-139.

4. Nelson J.C. and Wilcox R.B. (1996)
Analytical performance of free and total thyroxine assays.
Clin. Chem. 42 (1); 146-154.

5. Robbins, J. (1973)
Radioassay and Thyroid Gland.
Metabolism, 22 (8) : 1021.

XVIII. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CAŁKOWITA LICZBA ZLICZEŃ µl	KALIBRATORY µl	PRÓBKIE KONTROL E µl
Kalibratory (0 - 5) Próbki , kontrole Znacznik Anty-T4	- - 200 -	20 - 200 100	- 20 200 100
Inkubacja	1 godzinę w temperaturze pokojowej, nieprzerwanie wstrząsając.		
Rozdzielenie Roboczy roztwór płuczący Rozdzielenie	-	Aspiracja (lub odlewanie) 2,0 ml Aspiracja (lub odlewanie)	
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIAsource: KIP1641	Numer P.I.: 1700581/pl	Nr aktualizacji: 090424/1
-------------------------------------	---------------------------	------------------------------

Data wydania 2009-04-24



Прочетете целия протокол преди употреба

T4-RIA-CT

I. УПОТРЕБА

Радиоимунно изследване за количествено измерване *in vitro* на човешки тироксин (T4) в серум.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

- A. Патентовано име: DIAsource T4-RIA-CT Kit
- B. Каталожен номер: KIP1641: 96 теста
KIP1644: 4 x 96 теста
- C. Произведено от: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue De l'Industrie 8 B-1400 Nivelles, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)67 88.99.99 Факс: +32 (0)67 88.99.96

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

A. Биологична активност

L-тироксинът (T4) е хормон, който се синтезира и съхранява в щитовидната жлеза. При протеолитичното разцепване на фоликуларния тиреоглобулин T4 се освобождава в кръвотока. Повече от 99% от T4 се свързва обратно с трите плазмени протеина в кръвта – тироксин-свързващият глобулин (TGB) свързва 70%, тироксин-свързващият преалбумин (TBA) свързва 20%, а албуминът свързва 10%. Приблизително 0.03% от T4 е в свободно, несвързано състояние в кръвта по всяко време.

B. Клинични приложения

Заболяванията, засягащи функцията на щитовидната жлеза, могат да се проявяват с голямо разнообразие от объркващи симптоми. Измерването на общия T4 чрез радиоимунно изследване е най-надеждният и удобен скринингов тест за определяне наличието на нарушения във функциите на щитовидната жлеза при различните пациенти. Повишени нива на T4 се откриват при хипертиреозидизъм, дължащ се на токсична дифузна струма и токсичен аденом на щитовидната жлеза, както и при остър и подостър тиреоидит. Ниските нива на T4 се свързват с вроден хипотиреоидизъм, микседема, хроничен тиреоидит (болест на Хашимото) и при някои генетични нарушения.

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

Определено количество натоварен с ¹²⁵I T4 се конкурира с наличния в проба или калибратор андростендион, подлежащ на измерване, за определено количество центрове на специфични антитела на анти-T4, които са свързани с кози антитела против мишки (GAM), имобилизирани към стените на полистиролова епруветка. След едночасова инкубация на стайна температура конкурентната реакция приключва с аспирация. След това епруветките се измиват с 2 ml Работен Измиващ Разтвор и се аспирират наново. Начертава се калибрационна крива, а концентрациите на T4 в пробите се определят чрез интерполация на дозата от калибрационната крива.

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти	Количество 96 теста	Количество о 4x96 теста	Цветен код	Приготвяне			
 Епруветки, покрити с GAM (кози антитела против мишки)	2 x 48	8 x 48	черен	Готов за употреба			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ПРОСЛЕДЯВАЩО ВЕЩЕСТВО: T4, натоварен с ¹²⁵ йод (HPLC скала) във фосфатен буфер с волски казеин и азид (<0.1%)	Ag	¹²⁵ I	1 флакон 21 ml 111 kBq	4флакона 21 ml 4x111 kBq	червен	Готов за употреба	
Ag	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Нулев Калибратор в човешки серум с тимол и гентамицин	CAL	0	1 флакон лиофил изирани	2 флакона лиофилизирани	жълт	Добавете 0,5 ml дестилирана вода	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Калибратор - N = 1 до 5 (виж точните стойности на етикета на флаконите) в човешки серум с тимол и гентамицин	CAL	N	5 флакон лиофил изирани	10 флакона лиофилизирани	жълт	Добавете 0,5 ml дестилирана вода	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ab</td></tr></table> Анти-T4 (моноклонални) антитела във фосфатен буфер с волски серумен албумин и тимол	Ab	1 флакон лиофил изирани	4 флакона лиофилизирани	син	Добавете 11 ml дестилирана вода		
Ab							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Измиващ разтвор (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 флакон 10 ml	4 флакона 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Контроли 1 и 2 в човешки серум с тимол и гентамицин	CONTROL	N	2 флакон а лиофил изирани	4 флакона лиофилизирани	сребърен	Добавете 0,5 ml дестилирана вода	
CONTROL	N						

Забележка: Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

- 1. Дестилирана вода
- 2. Пипети от: 20 µl, 100 µl, 200 µl и 500 µl (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
- 3. Завихрящ смесител
- 4. Магнитен сепаратор
- 5. Клатещо устройство за епруветки
- 6. 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
- 7. Аспирационна система (по избор).
- 8. Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество ¹²⁵I (минимален капацитет от 70%)

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- A. **Калибратори** : Реконституирайте калибраторите с 0,5 ml дестилирана вода.
- B. **Контроли: Реконституирайте** контролите с 0,5 ml дестилирана вода.
- C. **Анти-T4:** Реконституирайте анти-T4 с 11 ml дестилирана вода.
- D. **Работен измиващ разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измиващия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиващ разтвор в края на деня.

VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8°C преди отваряне или реконституиране.
- След реконституиране, калибраторите и контролите са стабилни за срок от 7 дни при температури 2-8°C. За по-дълги срокове на съхранение, се определя повторно и се съхранява при температура -20 °C за максимум 3 месеца. Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- След реконституирането анти-T4 антителата са стабилни в продължение на 6 седмици при 2-8°C. **НЕ ЗАМРАЗЯВАЙТЕ.**
- Прясно приготвения Работен измиващ разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът трябва да се съхранява при температури 2-8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 24 часа, се препоръчва съхранение при температура -20°C.
- Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.

X. ПРОЦЕДУРА

A. Общи бележки

Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партии китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура. Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклащане или въртеливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен накрайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба. Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрили точността. Съобразявайте се с времето за инкубация. Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

B. Процедура

1. Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
2. Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 20 µl от всяко в съответните епруветки.
3. Разпределете 200 µl T4, натоварен с ¹²⁵йод във всяка епруветка, включително в непокритите епруветки за общото преброяване.
4. Разпределете 100 µl анти-T4 във всяка епруветка, с изключение на тези за определяне на общия брой импулси.
5. Разклатете нежно с ръка контейнера с епруветките, за да освободите всяко останало въздушно мехурче.
6. Инкубирайте за 1 час на стайна температура и непрекъснато разклащане.
7. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
8. Измийте епруветките с 2 ml Работен Разтвор за измиване (с изключение на общия брой) и аспирирайте (или прелейте). Избягвайте разпенване по време на добавянето на Работния Разтвор за измиване.
9. Оставете епруветките в изправено положение за две минути и аспирирайте останалите капки течност.
10. Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- 1. Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
- 2. Изчислете свързващата радиоактивност като процент от свързването, определен при нулевата калибрационна точка (0) според следната формула :
- 3. Използвайки 3 циклична семи-логаритмична или logit-log графична хартия, нанесете (В/В0(%)) стойностите за всяка калибрационна точка като функция на Т4 концентрацията на всяка калибрационна точка. Отхвърлете очевидните отклонения..

$$\text{В/В0 (\%)} = \frac{\text{брой (Калибратор и проба)}}{\text{брой (Нулев Калибратор)}} \times 100$$

- 4. Компютърно асистирани методи също могат да бъдат използвани, за да се построи калибрационната крива. Ако се използва автоматичен метод на обработка на резултатите, се препоръчва подходяща 4-параметрова логистична крива.
- 5. Чрез интерполация на (В/В0 (%)) стойностите от пробата се определят Т4 концентрации на пробите от калибрационната крива.
- 6. Процентът на общото проследяващо вещество, свързано при липса на ненатоварен Т4 (В0/Т), трябва да се провери за всяко изследване.

XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна крива.

Т4		срп	В/В0 (%)
Общ брой		32598	В/В0
Калибратор	0 nmol/l	12661	100,0
	12,8 nmol/l	11434	90,3
	32 nmol/l	8460	66,8
	80 nmol/l	4554	36,0
	200 nmol/l	2020	16,0
	500 nmol/l	932	7,4

XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

A. Определен лимит

Двадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил < 5 nmol/l.

В. Специфичност

Процентът на кръстосана реакция, преценен чрез сравняване с концентрацията при 50% потискане, е съответно:

Съединение	Кръстосана реактивност (%)
L-тироксин (L-T4)	100
D- тироксин (D-T4)	48
L-3,3',5 - трийодотиронин (L-T3)	1,01
L-3,3',5' - трийодотиронин (rT3)	7

Забележка: тази таблица показва кръстосаната реактивност за анти Т4

Г. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО				МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО			
Серум	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Серум	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)
A	10	32,4 ± 1,8	5,6	A	18	32,7 ± 2,1	6,5
B	10	183,8 ± 5,9	3,2	B	20	235,3 ± 15,2	6,5

SD : Стандартно отклонение; CV: Коефициент на вариация

D. Точност

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ			
Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (nmol/l)	Измерена концентрация (nmol/l)
A	1/1	-	425
	1/2	212,5	194,3
	1/4	106,3	89,1
	1/8	53,1	48,8
	1/16	26,6	22,5

Пробите бяха разредени с нулев калибратор

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ			
Проба	добавен Т4 (nmol/l)	Възстановен Т4 (nmol/l)	Възстановен (%)
1	32,2	27,1	84%
	64,4	67,8	105%
	128,7	132,6	103%
	257,4	290,5	113%
	386,1	444,8	115%

Доколкото ни е известно, за този параметър не съществува международен референтен материал.

Д. Закъснение

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 60 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруетка.

Закъснение				
Серум nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	46,5	43,0	38,6	36,4
C 2	202,5	212,6	207,3	201,0

XIV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни проби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

XV. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности.

Концентрациите на Т4 при нелекувани субекти с еутиреоидизъм (n=298) варират от 60 до 157 nmol/l. Интервалите се изразяват в проценти: от 2,5% до 97,5%.

XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.
Този набор съдържа ¹²⁵I (полуживот: 60 дни), емитиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (35,5 keV) лъчения.
Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.
Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извършва в определена за целта територия, далеч от регулярни зони на преминаване. В лабораторията трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и стъклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радионуклиди.
Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.
Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.
Всички животински продукти и деривати са били събирани от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска серумна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третираят като потенциално инфекциозни.
Избягвайте какъвто и да било кожен контакт с реагентите (съдържа натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със силна и обилна струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.
Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пипетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

XVII. БИБЛИОГРАФИЯ

1. Davis J.P. (1991)
Cellular actions of thyroid hormones.
The Thyroid. 190-230. 6th ed. Braverman L.E., Utiger R.D.

2. Stockigt J.R. (1996)
Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness.
Clin. Chem. 42 (1); 188-192.

3. Fisher D.A. (1996)
Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations.
Clin. Chem. 42 (1); 135-139.

4. Nelson J.C. and Wilcox R.B. (1996)
Analytical performance of free and total thyroxine assays.
Clin. Chem. 42 (1); 146-154.

5. Robbins, J. (1973)
Radioassay and Thyroid Gland.
Metabolism, 22 (8) : 1021.

XVIII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ µl	КАЛИБРАТОРИ µl	ПРОБА (И) КОНТРОЛИ µl
Калибратори (0-5) Проби, контроли Трейсър Анти-Т4	- - 200 -	20 - 200 100	- 20 200 100
Инкубация	1 час на стайна температура при непрекъснато разклащане		
Сепарация Измиващ разтвор Сепарация	- - -	аспирирайте (или прелейте) 2.0 ml аспирирайте (или прелейте)	
Броење	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIASource каталог номер: KIP1641	P.I. номер: 1700581/bu	Номер на ревизия: 090424/1
-------------------------------------	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2009-04-24

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjuaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjuaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjuaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjuaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjuaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjuaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjuaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Polietileno-glicol	Polyetylen glykol
	Solução de Extração	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stopplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιχνηθέτης	Markør
	Ιχνηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σοληνάρια	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylenglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<u>Stosowane symbole</u>	<u>Használt szimbólumok</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunadszorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietilén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extrakciós oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikro płytki	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
IVD	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ ратвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
UL	Микротитърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен TMB концентрат
CHROM TMB	Хромогенен TMB разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер