



FT4 Ria

KIPB1363



FT4 Ria

en

For the In Vitro Determination of Free Thyroxine in Human Serum and Plasma.

KIPB1363

IN VITRO DIAGNOSTIC

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

PRINCIPLE OF THE ASSAY

The radioimmunoassay of free thyroxine (T₄) is a competition assay based on the principle of labeled antibody. Samples and calibrators are incubated with ¹²⁵I-labeled monoclonal antibody specific for T₄, as tracer, in the presence of a biotinylated analog of thyroxine (ligand) in avidin-coated tubes. There is competition between the free thyroxine of the sample and the ligand for the binding to the labeled antibody. The fraction of antibody complexed with the biotinylated ligand binds to avidin-coated tubes. After incubation, the content of tubes is aspirated and bound radioactivity is measured. A calibration curve is established and unknown values are determined by interpolation from the curve.

REAGENTS PROVIDED

All reagents of the kit are stable until the expiry date indicated on the kit label, if stored at 2-8°C. Storage conditions for reagents after reconstitution or dilution are indicated in paragraph Assay Procedure.

Kit for determination of free T₄, 100 tubes

Coated tubes for the binding of the ligand : 2 x 50 tubes (ready-to-use)

Ab	125I	¹²⁵I-labeled monoclonal antibody: one 45 mL vial (ready-to-use) The vial contains 310 kBq, at the date of manufacture, of ¹²⁵ I-labeled immunoglobulins in liquid form with bovine serum albumin, sodium azide (<0.1%; see § Precautions) and a dye.
----	------	--

CAL	N	Calibrators: five 0.5 mL vials (ready-to-use) The calibrator vials contain contain from 0 to 75 pmol/L of free T ₄ in human serum and sodium azide (<0.1%; see § Precautions). The exact concentration is indicated on each vial label. The vials must be tightly capped immediately after pipetting and stored at 2-8°C. The evaporation of the calibrator solutions from open vials may influence results of the further determination. Calibrators are verified to an internal reference calibrator.
-----	---	---

Ag	BIOT	Ligand: one 12 mL vial (ready-to-use) The vial contains a ligand solution which includes also bovine proteins and sodium azide (<0.1% see § Precautions).
----	------	---

CONTROL	Control serum: one vial (lyophilised) The vial contains T ₄ in human serum (see § Precautions). The expected values are in the concentration range indicated on the supplement. The vial must be tightly capped immediately after pipetting and stored according to § 6.1. The evaporation of the solution from open vial may influence results of the further determination
---------	--

Attention: All liquid reagents should be examined for the absence of precipitates; the antibody solution should be clear and blue-green, the calibrators may be opalescent and the ligand should be clear and colourless.

MATERIAL PROVIDED BUT NOT REQUESTED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- Precision micropipette (25 µL).
- Semi-automatic pipets (100 µL and 400 µL).
- Vortex type mixer.
- Horizontal or orbital shaker.
- Aspiration system.
- Gamma counter set for 125 iodine.

PRECAUTIONS

- General remarks**
 - Bring all reagents to room temperature before pipeting.
 - Do not mix the reagents from kits of different lots.
 - A calibration curve must be included with each assay.
 - The correct setting of the shaker is very important for the reproducibility of the assay.
 - It is recommended to perform the assay in duplicate.
 - Each tube must be used only once
- Basic rules of radiation safety**

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material is subject to the regulations of the country of use. Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

 - No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
 - No pipeting of radioactive solutions by mouth.
 - Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and laboratory overalls.
 - All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate place, distant from corridors and other busy places.
 - Radioactive materials should be stored in the container provided in a designated area.
 - A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
 - Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
 - Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
 - Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.
 - This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.
- Sodium azide**

Some reagents contain sodium azide as a preservative. Sodium azide can react with lead, copper or brass to form explosive metal azides. Dispose of the reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.
- Human serum**

The materials of human origin, contained in this kit, were found negative for the presence of antibodies to HIV 1 and HIV 2, antibodies to HCV, as well as of Hepatitis B surface antigen (HBsAg). However, they should be handled as if capable of transmitting disease. No known test method can offer total assurance that no virus is present. Handle this kit with all necessary precautions.

All serum and plasma samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS and waste should be discarded according to the country rules.

SAMPLE COLLECTION, PROCESSING AND STORAGE

- Collect blood in dry tubes or in tubes containing heparin or EDTA, if possible after fasting.
- Separate serum or plasma from cells by centrifugation.
- Serum and plasma samples may be stored at 2-8°C, if the assay is to be performed within 48 hours. For longer storage keep frozen (<-18°C) after aliquoting so as to avoid repeated freezing and thawing.

ASSAY PROCEDURE

- Reconstitution of control serum**

The contents of the vial must be brought to room temperature before reconstitution with the volume of distilled water indicated on the vial label. Wait for 10 min following reconstitution and mix gently to avoid foaming before dispensing. Store the reconstituted solution at 2-8°C for one week or aliquoted at <-18°C until the expiry date of the kit.
- Assay procedure (see table next page)**

RESULTS

Results are obtained from the calibration curve by interpolation. The curve serves for the determination of free T4 concentrations in samples measured at the same time as the calibrators.

1. Calibration curve

The results in the package insert were calculated using a semi-logarithmic curve fit ("spline" mode) with B/T (%) or B/B₀ (%) on vertical axis and the free T4 concentration of the calibrators on the horizontal axis (pmol/L). Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity: 100,549 cpm				
Calibrators	free T4 (pmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	65,929	65.7	100
1	2.6	51,766	51.5	78.5
2	12.1	26,994	26.8	40.9
3	29.4	7,522	7.51	11.4
4	83.0	1,415	1.41	2.15

(Example of calibration curve, do not use for calculation)

2. Samples

For each sample, locate the B/T (%) or B/B₀ (%), on the vertical axis and read off the corresponding free T4 concentration in pmol/L on the horizontal axis.

To convert pmol/L to into ng/100 mL, multiply results by **0.0777**.

QUALITY CONTROL

Good laboratory practices imply that control samples be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These samples must be processed exactly the same way as the assay samples, and it is recommended that their results be analyzed using appropriate statistical methods.

In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following

E-mail address: tech.support@diasource.be.

EXPECTED VALUES

We recommend each laboratory to establish its own reference values. The range of values given here corresponds to clinical indications:

11.5 – 23.0 pmol/L

Remark: The following values were found on several studies on a total of 198 euthyroid patients.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(for more details, see the data sheet "APPENDIX")

1. Sensitivity

1.1 Analytical sensitivity: 0.5 pmol/L

1.2 Functional sensitivity: 2.4 pmol/L.

2. Specificity

The antibody used in the immunoassay is highly specific for T4. Extremely low cross reactivities were obtained against several related molecules (D-T4, T3, T3r, etc) or therapeutic drugs that may be present in patient samples (Amiodarone etc).

3. Precision

3.1 Intra-assay

Samples were assayed in 20 times in the same series. The coefficients of variation were found below or equal to 8.3 % for serum samples.

3.2 Inter-assay

Samples were assayed in duplicate in 15 different series. Coefficients of variation were found below or equal to 7.5 % for serum samples.

4. Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator):

0.5 – 75 pmol/L.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The non-respect of the instructions in this package insert may affect results significantly. Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.

Plasma biotin concentrations of below 40 ng/mL do not interfere with the assay. In the case of patients treated with high concentrations of biotin (>5 mg/day), blood samples must be taken at least 3 hours after the last administration of biotin.

The kit has not been validated on neonatal specimens.

Care should be taken when interpreting the results from hemolysed or icteric samples as the method has not been tested with such samples.

For assays employing antibodies, the possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays.

Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.

ASSAY PROCEDURE

Step 1 Additions *	Step 2 Incubation	Step 3 Counting
To coated tubes, add successively : - 25 µL of calibrators or samples and - 400 µL of tracer - 100 µL of ligand. Mix.	Incubate 60 min. at 18-25°C with shaking (>350 rpm).	Aspirate carefully the content of tubes (except the 2 tubes «total cpm»). Count bound cpm (B) and total cpm (T) for 1 min.

* Add 400 µL of tracer to 2 additional tubes to obtain total cpm.

Revision date : 2011-04-28



FT4 Ria

fr

Trousse radioimmunologique pour le dosage in vitro de la thyroxine libre dans le serum et le plasma

KIPB1363

IN VITRO DIAGNOSTIC

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage radioimmunologique de la thyroxine (T4) libre est un dosage par compétition utilisant le principe de l'anticorps marqué. Les échantillons à doser ou les calibrateurs sont incubés en présence d'un anticorps monoclonal spécifique de la T4 et d'un analogue biotinylé de la thyroxine (ligand), dans des tubes recouverts d'avidine. Une compétition s'établit entre la thyroxine libre de l'échantillon et le ligand pour la liaison à l'anticorps marqué. La fraction d'anticorps complexée au ligand biotinylé se fixe sur les tubes avidinés. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe.

REACTIFS FOURNIS

Tous les réactifs de la trousse conservés à 2-8° C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Les conditions de conservation des réactifs après reconstitution ou dilution, sont indiquées dans le paragraphe Mode opératoire.

Trousse de dosage de la T4 libre, 100 tubes

Tubes permettant la fixation du ligand : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Ab	125I
----	------

Anticorps monoclonal marqué à l'iode 125 : 1 flacon de 45 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 310 kBq, en début de lot, d'immunoglobulines marquées à l'iode 125 sous forme liquide contenant de l'albumine sérique bovine, de l'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions) et un colorant.

CAL	N
-----	---

Calibrateurs: 5 flacons de 0.5 mL (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateurs contiennent entre 0 à 75 pmol/L de la T4 en sérum humain et de l'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon. Les flacons doivent être **immédiatement refermés** après chaque pipetage. L'évaporation des calibrateurs à partir des tubes ouverts peut influencer les futurs résultats. Les calibrateurs sont validés sur un standard interne de référence.

Ag	BIOT
----	------

Ligand: 1 flacon de 12 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient une solution de ligand comprenant également des protéines bovines et de l'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions).

CONTROL

Sérum de contrôle : 1 flacon (lyophilisé)

Le flacon contient de la T4 en sérum humain (voir § Précautions). Les valeurs attendues sont dans la fourchette de concentrations indiquée sur le supplément. Les flacons doivent être **immédiatement refermés** après chaque pipetage. L'évaporation des solutions à partir des tubes ouverts peuvent influencer les futurs résultats.

Attention : Tous les réactifs doivent être dépourvus de précipité; la solution d'anticorps marqué doit être claire et colorée en bleu-vert; les calibrateurs peuvent être légèrement opalescents; le ligand doit être clair et incolore.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (25 µL)
- pipettes semi-automatique (100 µL; 400 µL)
- mélangeur de type vortex
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant
- système d'aspiration
- compteur gamma calibré pour l'iode 125

PRECAUTIONS

1. Précautions générales

- Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Le bon réglage de l'agitateur est une condition importante pour la reproductibilité du dosage.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

2. Protection contre les rayonnements ionisants

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur.

L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.
- Cette trousse contient I^{125} (demi-vie : 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).

3. Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

4. Sérum humain

Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousse ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation.

Tous les échantillons de sérum ou de plasma doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA et les déchets doivent éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

PRELEVEMENT, PREPARATION ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif, des tubes héparinés ou contenant de l'EDTA, si possible sur un individu à jeûn.
- Séparer le sérum ou le plasma des cellules par centrifugation.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés à 2-8°C si le dosage est réalisé dans les 48 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (<-18°C) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives.

MODE OPERATOIRE

1. Préparation du sérum de contrôle

Equilibrer le flacon à la température du laboratoire. Reprendre par le volume d'eau distillée indiqué sur l'étiquette de flacon. Attendre 10 min après reconstitution et agiter doucement en évitant la formation de mousse avant de répartir dans les tubes. Le sérum de contrôle reconstitué peut être conservé une semaine à 2-8°C. Au-delà il est préférable de le conserver congelé à une température inférieure à -18°C jusqu'à la date d'expiration de la trousse.

2. Mode opératoire du dosage (voir tableau au bas de la page)

RESULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer le taux de T4 libre de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

1. Courbe standard

Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé semi-logarithmique pour la gamme standard (mode "spline") avec en ordonnée le rapport B/T (%) ou B/B₀ (%) et en abscisse les concentrations en free T4 des calibrateurs (pmol/L). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 100 549 cpm :				
Calibrateurs	free T4 (pmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	65 929	65,7	100
1	2,6	51 766	51,5	78,5
2	12,1	26 994	26,8	40,9
3	29,4	7 522	7,51	11,4
4	83,0	1 415	1,41	2,15

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

2. Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer le rapport B/T (%) ou B/B₀ (%) sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et en déduire par lecture sur l'axe horizontal la concentration en T4 libre de l'échantillon. Pour convertir des concentrations de pmol/L en ng/100 mL, multipliez les résultats par **0,0777**.

CONTROLE DE QUALITE

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées. En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter notre service Support Technique : tech.support@diasource.be.

VALEURS ATTENDUES

Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de références. A titre indicatif, les résultats cliniques donnent les valeurs de référence ci-dessous:

11,5 – 23,0 pmol/L

Remarque : Ces valeurs normales ont été définies au cours de plusieurs études portant sur un total de 198 sujets euthyroïdiens.

CARACTERISTIQUES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

1. Sensibilité

1.1 Sensibilité analytique : 0.5 pmol/L

1.2 Sensibilité fonctionnelle : 2.4 pmol/L

2. Spécificité

L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de la T4 libre. Des réactivités croisées extrêmement basses ont été obtenues vis à vis de nombreuses molécules apparentées (D-T4, T3, T3r, etc...) ou vis à vis de médicaments pouvant être présents dans les échantillons à tester (Amiodarone etc...).

3. Précision

3.1 Intra-assai

Des échantillons ont été dosés 20 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 8,3 %.

3.2 Inter-assais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 15 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 7,5 %.

4. Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé): 0.5 – 75 pmol/L.

LIMITATIONS DE LA METHODE

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats. Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données des tests additionnels et toute autre information appropriée.

Il n'y a pas de perturbation par des concentrations plasmatiques de biotine inférieures à 40 ng/mL. Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (>5 mg/jour) le prélèvement du sang doit avoir lieu au moins 3 heures après la dernière prise.

La trousse n'a pas été testée chez les nouveau-nés.

Les dosages d'échantillons lipémiques ou hémolysés n'ont pas été réalisés.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

MODE OPERATOIRE

Etape1 Répartition *	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
Dans les tubes revêtus distribuer Successivement : - 25 µL de calibrateur ou d'échantillon et - 400 µL de traceur, - 100 µL de ligand. Agiter.	Incuber 60 minutes à 18-25°C avec agitation (>350 rpm).	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes « cpm totaux »). Compter les cpm liés (B) et cpm totaux (T) pendant 1 min.

* Ajouter 400 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.

Revision date : 2011-04-28



FT4 Ria

it

For the In Vitro Determination of Free Thyroxine in Human Serum and Plasma.

KIPB1363

IN VITRO DIAGNOSTIC

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

PRINCIPIO DEL METODO

Il dosaggio della tiroxina (T₄) libera è un metodo radioimmunologico competitivo basato sul principio dell'anticorpo marcato.

Campioni, calibratori e controlli sono incubati insieme ad un anticorpo monoclonale, specifico per la T₄ marcato con ¹²⁵I in presenza di un analogo della tiroxina biotinilato (ligando) in provette sensibilizzate con avidina. La tiroxina libera presente nel campione compete con il ligando biotinilato per il legame con l'anticorpo marcato. La frazione di anticorpo che si lega al ligando biotinilato si lega anche alle provette sensibilizzate con avidina. Dopo l'incubazione, le provette vengono aspirate e contaminate in un contatore gamma. La radioattività legata alle provette è inversamente proporzionale alla concentrazione di aldosterone in campioni e calibratori. Si traccia una curva di taratura e si calcolano per interpolazione sulla curva le concentrazioni dei campioni.

CONTENUTO DEL KIT

I reattivi, conservati a 2-8°C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. La conservazione dei reattivi ricostituiti è riportata paragrafo Metodo del Dosaggio.

Kit per il dosaggio della tiroxina libera, 100 determinazioni



Provette sensibilizzate con avidina: 2 x 50 provette (pronte per l'uso).

Ab	125I
----	------

Anticorpo monoclonale anti tiroxina marcato con ¹²⁵I: un flacone (45 mL) (pronto per l'uso).

Il flacone contiene meno di 310 kBq (alla data di marcatura) di immunoglobuline-¹²⁵I in forma liquida con albumina bovina, sodio azide (<0.1% vedi § precauzioni) e un colorante inerte.

CAL	N
-----	---

Calibratori: cinque flaconi (0.5 mL) (pronti per l'uso).

I flaconi contengono da 0 a 75 pmol/L di T₄ libera in siero umano con sodio azide (<0.1% vedi § precauzioni).

L'esatta concentrazione degli calibratori è riportata sulle etichette dei flaconi. Tappare con cura i flaconi **immediatamente dopo l'uso** e riporli a 2-8°C, per evitare che un'eventuale evaporazione degli calibratori possa influenzare i dosaggi successivi. Gli calibratori sono calibrati contro uno calibratore interno di riferimento.

Ag	BIOT
----	------

Ligando: un flacone (12 mL) (pronto per l'uso).

Il flacone contiene ligando in soluzione con albumina bovina, sodio azide (<0.1% vedi § precauzioni).

CONTROL

Siero di controllo: un flacone (liofilizzato).

Il flacone contiene T₄ in siero umano (vedi § precauzioni). I valori attesi sono riportati sul foglio del controllo di qualità. Tappare con cura i flaconi **immediatamente dopo l'uso** e conservarli come riportato nel paragrafo 6.1, per evitare che un'eventuale evaporazione dei controlli possa influenzare i dosaggi successivi.

Attenzione: controllare che nei reattivi liquidi non sia presente precipitato, la soluzione dell'anticorpo sia limpida e di colore blu-verde, gli calibratori opalescenti e il ligando limpido e privo di colorazione.

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- micropipette di precisione (25 µL).
- pipette semi-automatiche (100 µL e 400 µL).
- agitatore tipo vortex.
- agitatore oscillante per provette.
- sistema di aspirazione.
- contatore gamma programmato per leggere ¹²⁵I.

PRECAUZIONI

- Considerazioni generali**
 - prima dell'uso lasciare equilibrare i reattivi a temperatura ambiente.
 - non utilizzare reattivi di lotti diversi.
 - inserire la curva calibratore in ogni esperimento.
 - per ottenere una migliore riproducibilità, è necessario programmare l'agitatore oscillante a >350 rpm.
 - eseguire il dosaggio in duplicato.
 - Ogni tubo va usato solo una volta.
- Norme di radioprotezione**
 - L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.
 - Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.
 - Non pipettare materiale radioattivo con pipette a bocca.
 - 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.
- Sodio azide**

Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosivi. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.
- Siero umano o urine**

Alcuni reattivi presenti nel kit sono di origine umana e si sono rivelati negativi per HIV1 e HIV2, HBV e HCV. Questi reattivi devono essere manipolati come in grado di trasmettere malattie infettive. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che questi o altri agenti infettivi siano assenti. Manipolare questi reattivi come potenziali fonti di infezioni.

Manipolare tutti i campioni di sangue come potenziali fonti di infezioni. (Ad es. epatite o AIDS). I rifiuti devono essere smaltiti secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere i campioni in provette senza anticoagulante o con eparina o EDTA., preferibilmente da pazienti a digiuno.
- Separare per centrifugazione il siero o il plasma dalla parte corpuscolata.
- I campioni possono essere conservati fino a 48 ore a 2-8°C o, suddivisi in aliquote, a -18°C o a temperature inferiori per periodi più lunghi. Evitare ripetuti cicli di congelamento - scongelamento dei campioni.

METODO DEL DOSAGGIO

- Ricostituzione del siero di controllo**

Ricostituire il contenuto del flacone con il volume d'acqua distillata riportato sull'etichetta del flacone. Lasciar riposare per almeno 10 minuti e controllare la completa dissoluzione del liofilizzato invertendo più volte il flacone. Il controllo ricostituito è stabile 1 settimana a 2-8°C e, suddivisi in aliquote, a -18°C o a temperature inferiori fino alla scadenza del kit.
- Schema del dosaggio (vedi tabella alla pagina seguente)**

RISULTATI

Le concentrazioni di FT4 in campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva calibratore. Campioni e controlli devono essere dosati insieme agli calibratori.

1. Curva calibratore

I risultati contenuti nelle istruzioni sono stati calcolati usando l'interpolazione semilogaritmica spline, con B/T% o B/B₀ % sull'asse verticale (asse delle ordinate) e le concentrazioni degli calibratori (pmol/L) sull'asse orizzontale (asse delle ascisse). Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

Attività Totale : 100,549 cpm				
Calibratori	T ₄ libera (pmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	65,929	65.7	100
1	2.6	51,766	51.5	78.5
2	12.1	26,994	26.8	40.9
3	29.4	7,522	7.51	11.4
4	83.0	1,415	1.41	2.15

(Esempio di curva calibratore. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

2. Campioni

Calcolare B/T % o B/B₀ % per ogni campione, riportarlo sull'asse delle ordinate e leggere le concentrazioni corrispondenti sull'asse delle ascisse. Fattore di conversione per passare da pmol/L a ng/100 mL: Moltiplicare i risultati per 0,0777.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente sieri di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

Nel caso di deterioramento dell'imballaggio o nel caso in cui i dati ottenuti mostrino una diminuzione di performance del prodotto, si prega di contattare il distributore locale o di riferirsi all'indirizzo e-mail: tech.support@diasource.be.

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento in campioni provenienti da soggetti caratterizzati clinicamente. Si prega di considerare solo come guida i valori sotto riportati.

11.5 – 23.0 pmol/L

Nota: i valori riportati sono stati ottenuti con numerosi dosaggi su un totale di 198 pazienti eutiroidei.

CARATTERISTICHE DEL DOSAGGIO

(Ulteriori dati sono riportati in "APPENDICE").

1. Sensibilità

1.1 Sensibilità analitica: 0.5 pmol/L.

1.2 Sensibilità funzionale: 2.4 pmol/L.

2. Specificità

L'anticorpo utilizzato nel dosaggio è altamente specifico per la T₄. Cross-reazioni molto basse sono state trovate per alcune molecole correlate (D-T₄, T₃, rT₃ ecc.) o farmaci che possono essere presenti nei campioni del paziente (Amiodarone etc).

3. Precisione

3.1 Intra-saggio

Alcuni campioni sono stati dosati 20 volte in uno stesso esperimento. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 8.3% o inferiore.

3.2 Inter-saggio

Alcuni campioni sono stati dosati in duplicato in 15 esperimenti differenti. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 7.5% o inferiore.

4. Campo di misura (è compreso tra la concentrazione della sensibilità analitica alla concentrazione del calibratore più elevato): 0.5 – 75 pmol/L.

LIMITI DEL METODO

Rispettare accuratamente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti.

I risultati ottenuti con questo dosaggio devono essere interpretati alla luce del quadro clinico, insieme ai dati clinici e ad altri dati di laboratorio o strumentali.

Concentrazioni di plasma biotina al di sotto di 40 ng/ml non interferiscono con il dosaggio. In caso di pazienti trattati con alte concentrazioni di biotina (>5mg/giorno), i campioni devono essere prelevati almeno 3 ore dopo la somministrazione della biotina stessa. Il kit non è stato validato su campioni neonatali.

L'interpretazione dei risultati su campioni emolizzati o itterici deve essere fatta con estrema attenzione, poiché il metodo non è stato testato su tali campioni.

Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi.

Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

SCHEMA DEL DOSAGGIO

Fase 1 Dispensazione *	Fase 2 Incubazione	Fase 3 Conteggio
Aggiungere in successione, alle provette sensibilizzate : - 25 µL di calibratori o campioni e - 400 µL di marcato - 100 µL di ligando. Agitare su vortex.	Incubare 60 min. at 18-25°C in agitazione (>350 rpm).	Aspirare con cura il contenuto delle provette (eccetto le 2 provette per l'Attività Totale). Contare la radioattività legata (B) e l'Attività Totale (T) per 1 min.

* Aggiungere 400 µL di marcato a 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'Attività Totale.

Revision date : 2011-04-28



FT4 Ria

en

For the In Vitro Determination of Free Thyroxine in Human Serum and Plasma.

KIPB1363

IN VITRO DIAGNOSTIC

APPENDIX PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Specificity

Data on cross-reactivity with several related molecules for T4 were tested by RIA using 125I-labeled T4 and separating free from bound hormone by polyethylene glycol precipitation. The results are presented in the following table :

Analog	Cross-reactivity (%)
L-thyroxine	100
D-thyroxine	33
L-3, 3', 5-triiodothyronine (T3)	0.8
L-3, 3', 5'-triiodothyronine (T3r)	10.2

Precision

Intra-assay (n=25)

Samples	A	B	C	D
Mean value (pmol/L)	9.65	13.0	25.5	27.7
CV (%)	5.92	2.48	5.24	8.23

Inter-assay (n=10)

Samples	1	2	3	4	5
Mean value (pmol/L)	7.55	15.6	21.8	27.1	81.8
CV (%)	6.24	3.41	3.56	3.01	7.48

	<u>Used symbols</u>
	Consult instructions for use
	Storage temperature
	Use by
LOT	Batch code
REF	Catalogue number
CONTROL	Control
IVD	In vitro diagnostic medical device
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
WASH SOLN CONC	Wash solution concentrated
CAL 0	Zero calibrator
CAL N	Calibrator #
CONTROL N	Control #
Ag 1251	Tracer
Ab 1251	Tracer
Ag 1251 CONC	Tracer concentrated
Ab 1251 CONC	Tracer concentrated
	Tubes
INC BUF	Incubation buffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Dilution buffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Calibrator diluent
REC SOLN	Reconstitution solution
PEG	Polyethylene glycol
EXTR SOLN	Extraction solution
ELU SOLN	Elution solution
GEL	Bond Elut Silica cartridges
PRE SOLN	Pre-treatment solution
NEUTR SOLN	Neutralization solution
TRACEUR BUF	Tracer buffer
	Microtiterplate
Ab HRP	HRP Conjugate
Ag HRP	HRP Conjugate
Ab HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
Ag HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
CONJ BUF	Conjugate buffer
CHROM TMB CONC	Chromogenic TMB concentrate
CHROM TMB	Chromogenic TMB solution
SUB BUF	Substrate buffer
STOP SOLN	Stop solution
INC SER	Incubation serum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjugate
SUB PNPP	Substrate PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin conjugate concentrate
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentrate
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotin conjugate
Ab	Specific Antibody
SAV HRP CONC	Streptavidin HRP concentrate
NSB	Non-specific binding
2nd Ab	2nd Antibody
ACID BUF	Acidification Buffer
DIST	Distributor

	<u>Symboles utilisés</u>
	Consulter les instructions d'utilisation
	Température de conservation
	Utiliser jusqu'à
LOT	Numéro de lot
REF	Référence de catalogue
CONTROL	Contrôle
I V D	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Contenu suffisant pour <n> tests
WASH SOLN CONC	Solution de lavage concentrée
CAL 0	Calibrateur zéro
CAL N	Calibrateur #
CONTROL N	Contrôle #
Ag 125I	Traceur
Ab 125I	Traceur
Ag 125I CONC	Traceur concentré
Ab 125I CONC	Traceur concentré
	Tubes
INC BUF	Tampon d'incubation
ACETONITRILE	Acétonitrile
SERUM	Sérum
DIL SPE	Diluant du spécimen
DIL BUF	Tampon de dilution
ANTISERUM	Antisérum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbant
DIL CAL	Diluant de calibrateur
REC SOLN	Solution de reconstitution
PEG	Glycol Polyéthylène
EXTR SOLN	Solution d'extraction
ELU SOLN	Solution d'élution
GEL	Cartouches Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solution de pré-traitement
NEUTR SOLN	Solution de neutralisation
TRACEUR BUF	Tampon traceur
TIT	Microplaque de titration
Ab HRP	HRP Conjugué
Ag HRP	HRP Conjugué
Ab HRP CONC	HRP Conjugué concentré
Ag HRP CONC	HRP Conjugué concentré
CONJ BUF	Tampon conjugué
CHROM TMB CONC	Chromogène TMB concentré
CHROM TMB	Solution chromogène TMB
SUB BUF	Tampon substrat
STOP SOLN	Solution d'arrêt
INC SER	Sérum d'incubation
BUF	Tampon
Ab AP	AP Conjugué
SUB PNPP	Tampon PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotine conjugué concentré
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentré
ASS BUF	Tampon de test
Ab BIOT	Biotine conjugué
Ab	Anticorps spécifique
SAV HRP CONC	Concentré streptavidine HRP
NSB	Liant non spécifique
2nd Ab	Second anticorps
ACID BUF	Tampon d'acidification

	<u>Simboli utilizzati</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Limitazioni di temperatura
	Utilizzare entro
LOT	Numero di lotto
REF	Numero di catalogo
CONTROL	Controllo
I V D	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Fabbricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi
WASH SOLN CONC	Tampone di lavaggio concentrato
CAL 0	Calibratore zero
CAL N	Standard #
CONTROL N	Controllo #
Ag 125I	Marcato
Ab 125I	Marcato
Ag 125I CONC	Marcato concentrato
Ab 125I CONC	Marcato concentrato
	Provette
INC BUF	Tampone incubazione
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Siero
DIL SPE	Diluente campione
DIL BUF	Tampone diluizione
ANTISERUM	Antisiero
IMMUNOADSORBENT	Immunoassorbente
DIL CAL	Diluente calibratore
REC SOLN	Soluzione di ricostituzione
PEG	Polietilenglicole
EXTR SOLN	Soluzione di estrazione
ELU SOLN	Soluzione di eluizione
GEL	Cartucce di silice bond elut
PRE SOLN	Soluzione di pretrattamento
NEUTR SOLN	Soluzione di neutralizzazione
TRACEUR BUF	Tracer Buffer
	Piastra di microtitolazione
Ab HRP	HRP Coniugato
Ag HRP	HRP Coniugato
Ab HRP CONC	HRP Coniugato concentrato
Ag HRP CONC	HRP Coniugato concentrato
CONJ BUF	Buffer coniugato
CHROM TMB CONC	Cromogena TMB concentrato
CHROM TMB	Soluzione cromogena TMB
SUB BUF	Tampone substrato
STOP SOLN	Soluzione di arresto
INC SER	Incubazione con siero
BUF	Buffer
Ab AP	AP Coniugato
SUB PNPP	Substrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrato coniugato con biotina
AVID HRP CONC	Concentrato avidina HRP
ASS BUF	Soluzione tampone per test
Ab BIOT	Coniugato con biotina
Ab	Anticorpo Specifico
SAV HRP CONC	Streptavidina-HRP concentrata
NSB	Legame non-specifico
2nd Ab	2° Anticorpo
ACID BUF	Tampone Acidificante