

RADIOIMMUNOASSAY FOR THE IN VITRO DETERMINATION OF TOTAL THYROXINE (TT4) IN HUMAN SERUM AND PLASMA



1. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The radioimmunoassay of total thyroxine (TT4) is a competition assay. Samples and calibrators are incubated with ¹²⁵I-labeled T4, as tracer, in antibody-coated tubes. After incubation, the liquid content of tubes is aspirated and the bound radioactivity is determined in a gamma counter. A standard curve is constructed and unknown values are obtained from the curve by interpolation.

2. REAGENTS PROVIDED

All reagents of the kit are stable until the expiry date indicated on the kit label, if stored at 2-8°C. Expiry dates printed on vial labels apply to the long-term storage of components by the manufacturer only, prior to assembly of the kit. Do not take into account. Storage conditions for reagents after reconstitution are indicated in paragraph Assay Procedure.

2.1 Kit for determination of total T4, 100 tubes (Cat. #1447)

2.1.1 Anti-T4 monoclonal antibody-coated tubes: 2 x 50 tubes (ready-to-use)

2.1.2 ¹²⁵I-labeled T4 tracer: one 55 mL vial (ready-to-use)

The vial contains 110 kBq, at the date of manufacture, of ¹²⁵I-labeled T4 in buffer with proteins, sodium azide (<0.1 %, see § Precautions) and a dye.

2.1.3 Calibrators: six 0.5 mL vials (ready-to-use)

The calibrator vials contain from 0 to approximately 400 nmol/L of T4 in human serum with sodium azide (<0.1%; see § Precautions). The exact concentration is indicated on each vial label. The calibrators were calibrated using the standard IRMM-468.

2.1.4 Control serum: two vials (lyophilised)

The vials contain T4 lyophilised in human serum with sodium azide (<0.1%; see § Precautions). The expected values are in the concentration range indicated on the supplement.

2.2 Kit for determination of total T4, 400 tubes (Cat. #3286)

2.2.1 Anti-T4 monoclonal antibody-coated tubes: 8 x 50 tubes (ready-to-use)

2.2.2 ¹²⁵I-labeled T4 tracer: four 55 mL vial (ready-to-use)

2.2.3 Calibrators: six 0.5 mL vials (ready-to-use)

2.2.4 Control serum: two vials (lyophilised)

3. MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

- Precision micropipets (20 µL).
- Semi-automatic pipets (500 µL).
- Vortex type mixer.
- Horizontal or orbital shaker.
- Aspiration system.
- Gamma counter set for 125 iodine.

4. PRECAUTIONS

4.1 General remarks:

- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- A standard curve must be established with each assay.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Each tube must be used only once.

4.2 Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material are 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.

4.3 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.

4.4 Material of human origin

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.

5. SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING AND STORAGE

- Collect blood in dry tubes or in tubes with EDTA.
- 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 24 hours. For longer storage (up to 1 month) keep frozen at <-20°C after aliquoting so as to avoid repeated freezing and thawing. Thawing of sample should be performed at room temperature.

Serum and EDTA plasma values for 15 samples (serum values ranging from 71.08 to 167.32 nmol/L) were compared using the IM1447 Total T4 RIA kit. Results are as follows:

$$[\text{EDTA-plasma}] = 0.6673[\text{serum}] + 22.12$$

$$R = 0.9749$$

6. ASSAY PROCEDURE

6.1 Reconstitution of control serum

The contents of the vials 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 solutions at 2-8°C for one week or aliquoted at <-18°C until the expiry date of the kit.

6.2 Assay procedure (see table next page)

7. RESULTS

Results are obtained from the standard curve by interpolation. The curve serves for the determination of TT4 concentrations in samples measured at the same time as the calibrators.

7.1 Standard curve

The results in the package insert were calculated using a logit-log curve fit (weighted cubic regression) with B/T (%) or B/B₀ (%) on vertical axis and the TT4 concentration of the calibrators on the horizontal axis (nmol/L). Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity: cpm 44,140				
Calibrators	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34,959	77.2	100
1	26	31,590	71.6	90.4
2	53	26,213	59.4	75.0
3	105	17,048	38.6	48.8
4	210	9,727	22.0	27.8
5	420	5,187	11.8	14.8

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

7.2 Samples

Locate for each sample the ratio B/T or B/B₀ on the vertical axis of the standard curve and read-off the corresponding TT4 concentration of the sample on the horizontal axis in nmol/L.

To convert concentrations from nmol/L to ng/dL, multiply results by 77.7.

8. QUALITY CONTROL

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

imunochem@beckman.com

9. EXPECTED VALUES

It is suggested that each laboratory establishes its own normal values. Normal concentration range of total T4 in serum for untreated euthyroid individuals was found:

	N	Mean, (nmol/L)	Median, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2.5 th - 97.5 th percentile (nmol/L)
Female	50	118.3	114.7	59.65 - 168.2	74.1-160.3
Male	50	96.42	96.76	59.13-141.4	68.91-122.3
Male and Female	100	107.4	101.9	59.13-168.2	69.32-159.7

10. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

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

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

10.1 Sensitivity

10.1.1 Analytical sensitivity: 10.63 nmol/L

10.1.2 Functional sensitivity: 16.71 nmol/L

10.2 Specificity

The antibody used in the immunoassay is highly specific for T4. Extremely low cross reactivities were obtained with several related molecules (e.g. L-T3).

10.3 Precision

10.3.1 Intra-assay

Serum samples were assayed 25 times in the same series. The coefficients of variation were found below or equal to 3.29 %.

10.3.2 Inter-assay

Serum samples were assayed in duplicate in 10 different series. The coefficients of variation were found below or equal to 7.53 %.

10.4 Accuracy

10.4.1 Dilution test

High-concentration samples were serially diluted with the zero calibrator. The recovery percentages obtained were between 88.1 % and 112 % for serum.

10.4.2 Recovery test

Samples were spiked with known quantities of TT4. The recovery percentages were obtained between 81.0 % and 107 % for serum.

10.5 Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator):

10.63 to approximately 400 nM.

11. LIMITATION OF THE METHOD

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. Do not use hemolyzed, lipemic or icteric 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.

6.2 ASSAY PROCEDURE

Bring all reagents to room temperature before pipeting.

Step 1 Additions *	Step 2 Incubation	Step 3 Counting
To antibody coated tubes, add successively: - 20 µL of calibrator, control or sample and - 500 µL of tracer. Mix.	Incubate 1 hour at 18-25 °C with shaking (>280 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 500 µL of tracer to 2 additional tubes to obtain total cpm.



TROUSSE RADIOIMMUNOLOGIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO DE LA THYROXINE TOTALE (TT4) DANS LE SERUM ET LE PLASMA HUMAIN



1. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage radioimmunologique de la thyroxine totale (TT4) est un dosage par compétition. Les échantillons à doser et les calibrateurs sont incubés dans des tubes recouverts d'anticorps monoclonaux avec un traceur T4 marqué à l'iode 125. 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.

2. 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 dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousse. Ne pas en tenir compte. Les conditions de conservation des réactifs après reconstitution ou dilution, sont indiquées dans le paragraphe Mode Opérateur.

2.1 Trousse de dosage de la T4 totale : 100 tubes (Réf. 1447)

2.1.1 Tubes revêtus d'anticorps anti-T4 : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

2.1.2 Traceur T4 marqué à l'iode 125 : 1 flacon de 55 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 110 kBq, en début de lot, de T4 marquée à l'iode 125 sous forme liquide avec de l'albumine sérique bovine, de l'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions) et un colorant.

2.1.3 Calibrateurs : 6 flacons de 0,5 mL (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateurs contiennent entre 0 à environ 400 nmol/L de T4 dans du sérum humain en présence d'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport au standard IRMM-468.

2.1.4 Sérums de contrôle : 2 flacons (lyophilisés)

Les flacons contiennent de la T4 lyophilisée dans du sérum humain avec de l'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur le supplément.

2.2 Trousse de dosage de la T4 totale : 400 tubes (Réf. 3286)

2.2.1 Tubes revêtus d'anticorps monoclonal anti-T4 : 8 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

2.2.2 Traceur T4 marqué à l'iode 125 : 4 flacons de 55 mL (prêts à l'emploi)

2.2.3 Calibrateurs : 6 flacons de 0,5 mL (prêts à l'emploi)

2.2.4 Sérums de contrôle : 2 flacons (lyophilisés)

3. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

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

- micropipette de précision (20 µL).
- pipettes semi-automatiques (500 µL).
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal.
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125.

4. PRECAUTIONS

4.1 Précautions générales

- Les flacons de calibrateurs et de contrôles doivent être ouverts des temps aussi courts que possible afin d'éviter une évaporation trop importante.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

4.2 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.

4.3 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.

4.4 Les produits d'origine humaine

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.

5. PRELEVEMENT, PREPARATION ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif, ou dans des tubes contenant de l'EDTA.
- 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 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (<-20°C, 1 mois maximum) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante.

Des valeurs sériques et de plasma EDTA de 15 échantillons (valeurs sériques allant de 71,08 à 167,32 nmol/L) ont été comparées au moyen du kit RIA IM1447 pour total T4. Les résultats sont comme suit :

$$[\text{plasma}] = 0,6673 [\text{sérum}] + 22,12$$

$$r = 0,9749$$

6. MODE OPERATOIRE DU DOSAGE

6.1 Préparation des sérums de contrôle

Equilibrer les flacons à la température du laboratoire. Reprendre par le volume d'eau distillée indiqué sur les étiquettes des flacons. Attendre 10 min après reconstitution et agiter doucement en évitant la formation de mousse avant de répartir dans les tubes. Les sérums de contrôle reconstitués peuvent être conservés une semaine à 2-8°C. Au-delà il est préférable de les conserver congelés et aliquotés à une température inférieure à -18°C jusqu'à la date d'expiration de la trousse.

6.2 Mode opératoire du dosage (voir tableau page suivante)

7. RESULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de TT4 de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

7.1 Courbe standard

Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé logit-log (régression pondérée cubique) pour la gamme standard avec en ordonnée le rapport B/T (%) ou B/B₀ (%) et en abscisse les concentrations en TT4 des calibrateurs (nmol/L). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 44140 cpm				
Calibrateurs	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34959	77,2	100
1	26	31590	71,6	90,4
2	53	26213	59,4	75,0
3	105	17048	38,6	48,8
4	210	9727	22,0	27,8
5	420	5187	11,8	14,8

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

7.2 Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer le rapport B/T ou B/B₀ sur l'axe vertical de la courbe standard et en déduire par lecture sur l'axe horizontal la concentration en TT4 de l'échantillon en nmol/L.

Pour convertir des concentrations de nmol/L en ng/dL, multipliez les résultats par 77,7.

8. 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 : imunochem@beckman.com

9. VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les concentrations en T4 mesuré sur des échantillons sériques chez un individu euthyroïdien non traité sont :

	N	Moyenne, (nmol/L)	Median, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2,5 ^{ème} - 97,5 ^{ème} percentile (nmol/L)
Hommes	50	118,3	114,7	59,65 - 168,2	74,1-160,3
Femmes	50	96,42	96,76	59,13-141,4	68,91-122,3
Tous les sujets	100	107,4	101,9	59,13-168,2	69,32-159,7

10. CARACTERISTIQUES DU DOSAGE

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

Les données représentatives ne sont fournies qu'à titre d'illustration. Les performances obtenues dans les laboratoires individuels peuvent varier.

10.1 Sensibilité

10.1.1 Sensibilité analytique : 10,63 nmol/L

10.1.2 Sensibilité fonctionnelle : 16,71 nmol/L

10.2 Spécificité

L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de la T4. Des réactivités croisées extrêmement basses ont été obtenues vis à vis de nombreux molécules proches (ex : L-T3).

10.3 Précision

10.3.1 Intra-essai

Des échantillons sériques ont été dosés 25 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 3,29 %.

10.3.2 Inter-essais

Des échantillons sériques ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 7,53 %.

10.4 Exactitude

10.4.1 Epreuve de dilutions

Des échantillons sériques de concentration élevée ont été dilués dans le calibrateur zéro. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnaient entre 88,1 % et 112 % pour le serum.

10.4.2 Epreuve de surcharge

Des quantités connues de TT4 ont été ajoutées à des sérums. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnaient entre 81,0 % et 107 % pour le serum.

10.5 Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 10,63 à environ 400 nM.

11. LIMITATIONS DE LA MÉTHODE

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 tableau clinique complet du patient, incluant notamment l'historique clinique et les résultats de tout autre test ou information relevante.

Ne pas utiliser de spécimens hémolysés, icteriques ou lipémiques.

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.

6.2 MODE OPERATOIRE

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.

Etape 1 Répartition *	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement : - 20 µL de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon et - 500 µL de tracer. Agiter.	Incuber 1 heure à 18-25 °C avec agitation (>280 rpm).	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes «cpm totaux»).
		Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

* Ajouter 500 µL de tracer dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.



**RADIOIMMUNOASSAY FÜR DIE IN-VITRO BESTIMMUNG VON
TOTALEM THYROXIN (TT4) IN HUMANEM SERUM UND PLASMA**

1. TESTPRINZIP

Der Assay für die Bestimmung von totalem Thyroxin (T4) ist ein radioimmunologischer, kompetitiver Assay. Unbekannte Proben und Kalibratoren werden in mit Antikörpern beschichteten Röhrchen mit einem ¹²⁵I-markierten T4-Tracer inkubiert. Nach der Inkubation wird die Flüssigkeit abgesaugt und die gebundene Radioaktivität bestimmt. Unbekannte Probenwerte werden mittels Interpolation aus der Standardkurve bestimmt.

2. REAGENZIEN

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8°C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten. Lagerungskonditionen der Reagenzien nach der Wiederherstellung werden im Paragraph Testdurchführung erläutert.

2.1 Kit für die Bestimmung von totalem T4, 100 Röhrchen (Kat. #1447)
**2.1.1 Mit Anti-T4 monoklonalen Antikörpern beschichtete Röhrchen :
2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)**
2.1.2 ¹²⁵I-markierter T4-Tracer: eine 55mL Flasche (gebrauchsfertig)
Die Flasche enthält 110 kBq (am Tag der Herstellung) des ¹²⁵I-markierten T4 in Puffer mit Proteinen, Natriumazid (<0,1%; siehe § Warn- und Sicherheitshinweise), und einem Farbstoff.

2.1.3 Kalibratoren: sechs 0,5mL Fläschchen (gebrauchsfertig)
Die Kalibratorfläschchen enthalten zwischen 0 bis ungefähr 400 nmol/L T4 in humanem Serum mit Natriumazid (<0,1%; siehe § Warn- und Sicherheitshinweise). Die Kalibratoren wurden gegen die Standard-präparation IRMM-468 kalibriert.

2.1.4 Serumkontrolle : 2 Fläschchen (lyophilisiert)
Die Fläschchen enthalten lyophilisiertes T4 in humanem Serum mit Natriumazid (<0,1%, siehe § Warn- und Sicherheitshinweise). Der Konzentrationsbereich wird auf der Packungsbeilage angegeben..

2.2 Kit für die Bestimmung von totalem T4, 400 Röhrchen (Kat. #3286)
**2.2.1 Mit Anti-T4 monoklonalen Antikörpern beschichtete Röhrchen :
8 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)**
2.2.2 ¹²⁵I-markierter T4-Tracer: vier 55mL Flaschen (gebrauchsfertig)
2.2.3 Kalibratoren: sechs 0,5mL Fläschchen (gebrauchsfertig)
2.2.4 Serumkontrolle : 2 Fläschchen (lyophilisiert)
3. ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE GERÄTE

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- Präzisionspipette (20 µL).
- halbautomatische Pipetten (500 µL).
- Vortex-Mixer.
- Horizontal-, oder Orbitalschüttler.
- Absaugsystem.
- Gamma-Counter für ¹²⁵I.

4. WARN-, - UND SICHERHEITSHINWEISE
4.1 Allgemeinhinweise:

- Die Kalibrator- und Kontrollfläschchen sollten so kurz wie möglich geöffnet werden, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Der Assay sollte als Doppelbestimmung stattfinden.
- Jedes Röhrchen darf nur einmal verwendet werden.

4.2 Schutz vor radioaktiver Strahlung

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Keine Mundpipette verwenden.
- Direkter Kontakt mit radioaktiven Materialien sollte durch Tragen entsprechender Schutzkleidung (Laborkittel, Handschuhe) vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muß in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien sollten in einem speziell gekennzeichneten Bereich gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muß entsprechend der Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

4.3 Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metallaziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden.

4.4 Bestandteile menschlichen Ursprungs

Bestandteile menschlichen Ursprungs, die für diesen Kit verwendet wurden, sind auf HIV-1 und HIV-2 Antikörper, HCV Antikörper und Hepatitis B surface Antigen (HBsAg) getestet und als nicht reaktiv befunden wurden. Es ist so vorzugehen, als ob eine tatsächliche Ansteckungsgefahr bestünde. Keine Testmethode kann völlige Sicherheit bieten. Der Kit sollte mit allen notwendigen Sicherheitsvorkehrungen behandelt werden.

Alle Serum- und Plasmaproben sollten als potentielle Überträger von Hepatitis und AIDS behandelt und Abfälle entsprechend den jeweiligen Länderbestimmungen entsorgt werden.

5. PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG UND LAGERUNG

- Sammeln Sie das Blut in Röhrchen ohne Zusätze oder mit EDTA.
- Trennen Sie die Zellen vom Serum oder Plasma durch Zentrifugation.
- Serum- und Plasmaproben können bei 2-8°C gelagert werden, wenn der Assay innerhalb von 24h durchgeführt wird. Für eine längere Lagerung sollte die Probe aliquotiert und eingefroren werden (<-20°C, maximum 1 Monat). Wiederholtes Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.

Die Serum- und EDTA-Plasmapwerte von 15 Proben (Serumwerte im Bereich zwischen 71,08 nmol/L und 167,32 nmol/L) wurden unter Verwendung des IM1447 TT4-RIA-Kits verglichen. Dabei wurden die folgenden Ergebnisse ermittelt:

$$[\text{Plasma}] = 0,6673 [\text{Serum}] + 22,12;$$

$$r = 0,9749$$

6. TESTDURCHFÜHRUNG
6.1 Wiederaufnahme der Serumkontrollen

Der Inhalt der Fläschchen sollte Raumtemperatur haben, und dann mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen destilliertem Wassers wiederaufgenommen werden. Eine Wartezeit von 10 Minuten und leichtes Mischen sollten jegliches Schäumen vor dem Verteilen vermeiden. Die wiederaufgenommenen Lösungen können bei 2-8°C eine Woche, oder aliquotiert bei < -18°C bis zum Verfallsdatum des Kits gelagert werden.

6.2 Testdurchführung (siehe Tafel auf der folgenden Seite)
7. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve mittels Interpolation ermittelt. Die Kurve kann für die Bestimmung der TT4-Konzentration in den Proben dienen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

7.1 Standardkurve

Die Ergebnisse in der Packungsbeilage wurden errechnet mittels einer logit-log Kurvenanpassung ("gewichtete kubische Regression") mit B/T (%) oder B/B₀ (%) auf der y-Achse und den TT4-Konzentrationen der Kalibratoren auf der x-Achse (nmol/L). Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

Totalaktivität: cpm 44140				
Kalibratoren	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34959	77,2	100
1	26	31590	71,6	90,4
2	53	26213	59,4	75,0
3	105	17048	38,6	48,8
4	210	9727	22,0	27,8
5	420	5187	11,8	14,8

((Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen))

7.2 Proben

Für jede Probe wird der B/T (%) oder B/B₀ (%) -Wert auf der y-Achse bestimmt und die entsprechende TT4-Konzentration (in nmol/L) auf der x-Achse abgelesen. Um die Werte von nmol/L in ng/dL umzurechnen, müssen sie mit **77,7** multipliziert werden.

8. QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Assay Proben getestet werden, und die Analyse der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungsbeeinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder benutzen Sie die folgende e-mail: imunochem@beckman.com

9. ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte jedoch seinen eigenen Normalbereich in Gruppen von gesunden Testpersonen festlegen.

Der normale Konzentrationsbereich von totalem T4 in Serum von unbehandelten euthyreoten Patienten befindet:

	N	Mittelwert, (nmol/L)	Median, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2,5- 97,5 Perzentile (nmol/L)
Männer	50	118,3	114,7	59,65 - 168,2	74,1-160,3
Frauen	50	96,42	96,76	59,13-141,4	68,91-122,3
Alle Testpersonen	100	107,4	101,9	59,13-168,2	69,32-159,7

10. SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

(Für mehr Details, siehe die Beilage "APPENDIX")

Repräsentative Daten dienen nur der Veranschaulichung. Die in einzelnen Labors erzielten Leistungen können anders ausfallen.

10.1 Sensitivität

10.1.1 Analytische Sensitivität: 10,63 nmol/L

10.1.2 Funktionelle Sensitivität: 16,71 nmol/L

10.2 Spezifität

Der in diesem Immunoassay verwendete Antikörper ist höchst spezifisch für T4. Extrem niedrige Kreuzreaktionen wurden mit einigen verwandten Molekülen (z.B. L-T3) ermessend.

10.3 Präzision

10.3.1 Intra-Assay

Serumproben aus derselben Serie wurden 25 mal getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 3,29 %.

10.3.2 Inter-Assay

Serumproben aus 10 verschiedenen Serien wurden als Doppelbestimmungen getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 7,53 %.

10.4 Genauigkeit

10.4.1 Verdünnungstest

Hoch konzentrierte Serumproben wurden mit Nullkalibrator verdünnt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 88,1% und 112 % für Serum.

10.4.2 Recovery test

Serumproben wurden mit definierten TT4-Mengen vermischt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 81,0 % und 107 % für Serum.

10.5 Meßbereich (von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator): 10,63 bis ungefähr 400 nM.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen.

Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.

Es dürfen keine hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben verwendet werden.

Bei Assays, die Antikörper nutzen, besteht die Möglichkeit einer Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder -diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (wie bspw. HAMA), welche die Immunoassays stören.

Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu untersuchen.

6.2 TESTDURCHFÜHRUNG

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben vor dem Pipettieren.

Schritt 1 Zugabe *	Schritt 2 Inkubation	Schritt 3 Messung
Zugabe zu den beschichteten Röhren (in dieser Reihenfolge): - 20 µL Kalibrator, Kontrolle oder Probe und - 500 µL Tracer. Mischen.	1 Stunde bei 18-25°C mit Schütteln (>280 rpm).	Vorsichtig den Inhalt der Röhren absaugen (außer den zwei Röhren für Totalaktivität). Gebundene cpm (B) und Totalaktivität (T) bestimmen 1 min.

* Fügen Sie 500 µL Tracer in 2 zusätzliche Röhren hinzu, um die Totalaktivität zu erhalten.



**KIT RADIOIMMUNOLOGICO PER LA DETERMINAZIONE IN VITRO
DELLA TIROXINA TOTALE (TT₄) IN SIERO E PLASMA UMANI**

1. PRINCIPIO DEL METODO

Il dosaggio del tiroxina totale (TT₄) è un metodo radioimmunologico competitivo. Campioni, calibratori e controlli sono incubati insieme a tiroxina marcata con ¹²⁵I in provette sensibilizzate con un anticorpo anti tiroxina. Dopo l'incubazione, le provette vengono aspirate e contaminate in un contatore gamma. La radioattività legata alle provette è inversamente proporzionale alla concentrazione di tiroxina in campioni e calibratori. Si traccia una curva di taratura e si calcolano per interpolazione sulla curva le concentrazioni dei campioni.

2. CONTENUTO DEL KIT

I reattivi, conservati a 2-8°C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nel kit. La conservazione dei reattivi ricostituiti è riportata paragrafo Metodo del Dosaggio.

2.1 Kit per il dosaggio della T4 totale, 100 determinazioni (Cat. # 1447)
2.1.1 Provette sensibilizzate con anticorpo monoclonale anti T4: 2 x 50 provette (pronte per l'uso)
2.1.2 T4-¹²⁵I: un flacone 55 mL (pronto per l'uso)

Il flacone contiene meno di 110 kBq (alla data di marcatura) di T4-¹²⁵I in tampone con proteine (BSA) e sodio azide (<0,1% vedi § precauzioni) e un colorante inerte.

2.1.3 Calibratori: sei flaconi 0,5 mL (pronti per l'uso)

I flaconi contengono T4 a concentrazioni comprese tra 0 e circa 400 nmol/L in siero umano con sodio azide (<0,1% vedi § precauzioni). L'esatta concentrazione degli calibratori è riportata sulle etichette dei flaconi. Gli calibratori sono calibrati contro lo standard IRMM-468.

2.1.4 Sieri di controllo: due flaconi (liofilizzati)

I flaconi contengono T4 in siero umano con sodio azide (<0,1% vedi § precauzioni). I valori attesi sono riportati sul foglio del controllo di qualità.

2.2 Kit per il dosaggio della T4 totale, 400 determinazioni (Cat. # 3286)
2.2.1 Provette sensibilizzate con anticorpo monoclonale anti T4 : 8 x 50 provette (pronte per l'uso)
2.2.2 T4-¹²⁵I: quattro flaconi 55 mL (pronti per l'uso)
2.2.3 Calibratori: sei flaconi 0,5 mL (pronti per l'uso)
2.2.4 Sieri di controllo: Due flaconi (liofilizzati)
3. MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

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

- micropipette di precisione (20 µL)
- pipette semi-automatiche (500 µL)
- agitatore tipo vortex
- agitatore oscillante per provette
- sistema di aspirazione
- contatore gamma programmato per leggere ¹²⁵I

4. PRECAUZIONI
4.1 Considerazioni generali:

- Aprire i flaconi dei calibratori e controlli nel più breve tempo possibile per evitarne l'eccessiva evaporazione.
- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Ogni tubo va usato solo una volta.

4.2 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.

4.3 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.

4.4 Materiale di origine umana

Alcuni reattivi presenti nel kit sono di origine umana e si sono rivelati negativi per HIV1 e HIV2, HBV e anticorpi anti 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.

5. RACCOLTA, MANIPOLAZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere i campioni in provette senza anticoagulante o con EDTA.
- Separare per centrifugazione il siero o il plasma dalla parte corpuscolata.
- I campioni possono essere conservati fino a 24 ore a 2-8°C o, suddivisi in aliquote, a -20°C o a temperature inferiori per periodi più lunghi (fino ad 1 mese). Evitare ripetuti cicli di congelamento - scongelamento dei campioni.

Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.

Sono stati confrontati i valori di siero e di plasma-EDTA di 15 campioni (valori del siero compresi nel range da 71,08 a 167,32 nmol/L), usando il kit IM1447 TT4 RIA. Sono stati ottenuti i risultati seguenti.

$$[\text{plasma}] = 0,6673[\text{siero}] + 22,12;$$

$$r = 0,9749$$

6. METODO DEL DOSAGGIO
6.1 Ricostituzione dei sieri di controllo

Portare i flaconi a temperatura ambiente. Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume di acqua distillata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare per almeno 10 minuti e controllare la completa dissoluzione del liofilizzato invertendo più volte i flaconi. I controlli ricostituiti sono stabili 1 settimana a 2-8°C o, suddivisi in aliquote, a -18°C o a temperature inferiori fino alla scadenza del kit. Evitare ripetuti cicli di congelamento - scongelamento dei campioni.

6.2 Schema del dosaggio: (vedi tabella alla pagina seguente).
7. RISULTATI

Le concentrazioni di TT4 in campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Campioni e controlli devono essere dosati insieme agli calibratori.

7.1 Curva standard

I risultati contenuti nelle istruzioni sono stati calcolati usando come interpolazione la regressione cubica pesata in logit-log, con B/T% o B/B₀ % sull'asse verticale (asse delle ordinate) e le concentrazioni dei calibratori (nmol/L) sull'asse orizzontale (asse delle ascisse). Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

Attività totale: cpm 44 140				
Calibratori	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34 959	77,2	100
1	26	31 590	71,6	90,4
2	53	26 213	59,4	75,0
3	105	17 048	38,6	48,8
4	210	9 727	22,0	27,8
5	420	5 187	11,8	14,8

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

7.2 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 nmol/L a ng/100 mL: moltiplicare i risultati per 77,7.

8. 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: imunochem@beckman.com

9. 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.

	N	Media, (nmol/L)	Mediana, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2,5- 97,5 percentile (nmol/L)
Maschi	50	118,3	114,7	59,65 - 168,2	74,1-160,3
Femmine	50	96,42	96,76	59,13-141,4	68,91-122,3
Tutti i soggetti	100	107,4	101,9	59,13-168,2	69,32-159,7

10. CARATTERISTICHE DEL DOSAGGIO

(Ulteriori dati sono riportati in APPENDICE)

Vengono forniti dati rappresentativi a mero scopo illustrativo. I risultati possono variare da laboratorio a laboratorio.

10.1 Sensibilità

10.1.1 Sensibilità analitica: 10,63 nmol/L

10.1.2 Sensibilità funzionale: 16,71 nmol/L

10.2 Specificità

L'anticorpo utilizzato nel dosaggio è altamente specifico per la tiroxina. Cross-reazioni molto basse sono state trovate per alcune molecole correlate (L- T₃ ecc.).

10.3 Precisione

10.3.1 Intra-saggio

Alcuni campioni di siero sono stati analizzati 25 volte in uno stesso esperimento. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 3,29 % o inferiore.

10.3.2 Inter-saggio

Alcuni campioni di siero sono stati analizzati in duplicato in 10 esperimenti differenti. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 7,53 % o inferiore.

10.4 Accuratezza

10.4.1 Test di diluizione

Alcuni campioni di siero ad alta concentrazione di T₄ sono stati diluiti con diluizioni seriali con il calibratore zero Il recupero è risultato essere compreso tra 88,1 % e 112 % per il siero.

10.4.2 Test di recupero

Ad alcuni campioni di siero a bassa concentrazione di T₄ sono state aggiunte quantità note di T₄ Il recupero è risultato essere compreso tra 81,0 % e 107 % per il siero.

10.5 Campo di misura (è compreso tra la concentrazione della sensibilità analitica alla concentrazione del calibratore più elevato): 10,63 e circa 400 nM.

11. LIMITI DEL METODO

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

I risultati devono essere valutati alla luce dei dati clinici del paziente ivi inclusa la sua storia clinica, risultati d'altri test e altre informazioni correlate.

Non usare campioni emolizzati, itterici o lipemici.

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.

6.2 SCHEMA DEL DOSAGGIO

Prima dell'uso lasciare equilibrare i reattivi a temperatura ambiente.

Fase 1 Dispensazione *	Fase 2 Incubazione	Fase 3 Conteggio
Aggiungere in successione alle provette sensibilizzate: - 20 µL di calibratori, controlli o campioni e - 500 µL di marcato. Agitare.	Incubare 1 ora a 18 - 25°C in agitazione (>280 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 500 µL di marcato a 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.



**RADIOINMUNO ANÁLISIS PARA LA DETERMINACION
IN VITRO DE TIROXINA TOTAL (TT4) EN SUERO O PLASMA HUMANOS**

1. PRINCIPIO DEL ENSAYO.

El radioinmunoanálisis de la tiroxina total (TT4) es un análisis competitivo. Las muestras y los calibradores se incuban con un anticuerpo monoclonal específico para T4 marcado con I^{125} , como trazador, en tubos recubiertos con anticuerpo. Después de la incubación se aspira el líquido contenido en los tubos y se determina la radioactividad enlazada. Se prepara una curva estándar y los valores desconocidos se determinan mediante interpolación con dicha curva.

2. REACTIVOS PROPORCIONADOS

Todos los reactivos son estables entre 2 y 8°C hasta la fecha de caducidad del equipo, la cual se indica en la etiqueta de éste. Las fechas de caducidad impresas sobre las etiquetas de los frascos son válidas sólo para el fabricante, durante su almacenamiento a largo plazo hasta antes del ensamblaje del equipo. No tener en cuenta.

Las condiciones de almacenamiento de los reactivos después de la reconstitución o dilución se indican en el inciso procedimiento del análisis.

2.1 Equipo para la determinación de la T4 total, 100 tubos (Cat. #1447)
2.1.1 Tubos recubiertos con el anticuerpo monoclonal anti-T4: 2 x 50 tubos
(listos para su uso)

2.1.2 Trazador T4 marcado con I^{125} : un frasco de 55 mL (listo para su uso)
El frasco contiene 110 kBq, en la fecha de fabricación, de T4 marcado con I^{125} en amortiguador con proteínas y azida de sodio (< 0.1%, véase inciso sobre precauciones) y un colorante.

2.1.3 Calibradores: seis frascos de 0.5 mL (listos para su uso)
Los frascos contienen desde 0 hasta aproximadamente 400 nmol/L de T4 en suero humano y azida de sodio (< 0.1%, véase inciso sobre precauciones). La concentración exacta se indica en la etiqueta. Los calibradores están calibrados frente al estándar IRMM-468.

2.1.4 Suero control: dos frascos (líoofilizados)
Los frascos contienen T4 líoofilizada en suero humano y azida de sodio (< 0.1%, véase inciso sobre precauciones). La concentración exacta se indica en una hoja anexa.

2.2 Equipo para la determinación de la T4 total, 400 tubos (Cat. #3286)
2.2.1 Tubos recubiertos con el anticuerpo monoclonal anti-T4: 8 x 50 tubos
(listos para su uso)

2.2.2 Trazador T4 marcado con I^{125} : cuatro frascos de 55 mL (listo para su uso)

2.2.3 Calibradores: seis frascos de 0.5 mL (listos para su uso)

2.2.4 Suero control: dos frascos (líoofilizados)

3. MATERIAL REQUERIDO PERO NO PROPORCIONADO

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Micropipetas de precisión (20 µL).
- Pipeta semiautomática (500 µL).
- Mezclador tipo vórtex.
- Agitador horizontal u orbital
- Sistema de aspiración.
- Contador gamma calibrado para I^{125} .

4. PRECAUCIONES
4.1 Generales

- Los viales de los calibradores y controles deben ser abiertos **durante el menor tiempo posible**, para así evitar evaporaciones excesivas.
- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- Incluir una curva estándar en cada ensayo.
- Es recomendado realizar el ensayo por duplicado.
- Cada tubo debe estar utilizado solamente una vez.

4.2 Seguridad radiológica

- La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetas a las disposiciones legales del país en el que se utiliza. El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica proporciona protección adecuada.
- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
 - No pipetear las soluciones radiactivas con la boca.
 - Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
 - Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.

- Los materiales radiactivos deben almacenarse en el contenedor aprobado en una zona especializada.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y la vidriería de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.
- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.

4.3 Azida de sodio

Algunos reactivos contienen azida de sodio como conservador. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo, el cobre y el bronce para formar azidas metálicas explosivas. Deseche los reactivos a través del sistema de drenaje mediante lavado con grandes cantidades de agua.

4.4 Material de origen humano

Ciertos reactivos de este equipo son de origen humano y fueron negativos a las pruebas de HIV 1, de HIV 2; de HCV, así como de hepatitis B (HBs Ag). Sin embargo, deben manejarse como si fueran capaces de transmitir enfermedad. Ninguna prueba conocida puede ofrecer la seguridad completa de la ausencia de agentes virulentos. Maneje estos reactivos con todas las precauciones necesarias. Todas las muestras de sangre deben manejarse como si fueran capaces de transmitir enfermedades (ej. hepatitis o SIDA). Por lo tanto los residuos se deberán eliminar de acuerdo con las reglamentaciones de las agencias autorizadas que tengan jurisdicción sobre el laboratorio, y con las normativas de cada país.

5. COLECCIÓN, PROCESAMIENTO Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- Colectar la sangre en tubos secos o que contengan EDTA.
- Separar el suero o el plasma de las células mediante centrifugación.
- Si el análisis habrá de realizarse dentro de las 24 horas siguientes las muestras pueden almacenarse entre 2 y 8°C. Si se requiere almacenar las muestras durante un periodo mayor, preparar alícuotas para evitar repetidas descongelaciones y congelaciones y almacenar las muestras a < -20°C, 1 mes máximo. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.

Se compararon los valores en suero y plasma con EDTA de 15 muestras (valores séricos de 71.08 a 167.32 nmol/L) usando el equipo IM1447 TT4 RIA. Los resultados fueron los siguientes:

$$[\text{plasma}] = 0.6673[\text{suero}] + 22.12;$$

$$r = 0.9749$$

6. PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS
6.1 Reconstitución de los Controles

Antes de la reconstitución con el volumen de agua destilada indicado en las etiquetas, permitir que los frascos alcancen la temperatura ambiente. Después de la reconstitución, esperar 10 minutos y agitar vigorosamente evitando la formación de espuma antes de repartir la solución en los tubos. Almacenar las soluciones reconstituidas entre 2-8°C si se utilizaran durante el día o, si se requieren utilizar después de un período mayor, hacer alícuotas y guardar a < -18°C hasta la fecha de caducidad del equipo.

6.2 Procedimiento del análisis (ver tabla a continuación)
7. RESULTADOS

Los resultados se obtienen por interpolación con la curva estándar. La curva sirve para la determinación de las concentraciones de la TT4 en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores.

7.1 Curva estándar

Los resultados presentados en este folleto han sido calculados usando una curva logit-log (regresión cúbica de peso) donde B/T (%) o B/B₀ (%) han sido marcadas sobre el eje vertical y las concentraciones de la TT4 de los calibradores (nmol/L), sobre el eje horizontal. La utilización de otros métodos de cálculo pueden dar resultados ligeramente diferentes.

Actividad total: 44,140 cpm				
Calibradores	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34,959	77.2	100
1	26	31,590	71.6	90.4
2	53	26,213	59.4	75.0
3	105	17,048	38.6	48.8
4	210	9,727	22.0	27.8
5	420	5,187	11.8	14.8

(Ejemplo de curva estándar, no utilizar como modelo para realizar los cálculos)

7.2 Muestras

Para cada muestra marcar sobre el eje vertical el B/T o el B/B₀ y sobre el eje horizontal, leer la correspondiente concentración de la TT4 de las muestras en nmol/L.

Para convertir de nmol/L a ng/dL, multiplicar los resultados por 77.7.

8. CONTROL DE CALIDAD

La obtención de óptimos resultados implica que las muestras testigo sean usadas en cada serie de experimentos para asegurar la calidad de los resultados obtenidos. Dichas muestras testigo deben ser procesadas de la misma manera que las muestras a analizar. Es recomendado que los resultados sean analizados utilizando los métodos estadísticos apropiados.

En caso de detectar un deterioro en el empaque del producto o que los resultados expresen una alteración en las características del mismo, contactar con el Distribuidor local o notificar a la dirección de e-mail: imunochem@beckman.com

9. VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. El rango de concentración normal de T4 total encontrada en suero de individuos con eutiroidismo sin tratamiento fue

	N	Media, (nmol/L)	Mediana, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2.5- 97.5 percentil (nmol/L)
Hombres	50	118.3	114.7	59.65 - 168.2	74.1-160.3
Mujeres	50	96.42	96.76	59.13-141.4	68.91-122.3
Todos los participantes	100	107.4	101.9	59.13-168.2	69.32-159.7

10. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ANÁLISIS

(Para mayores detalles ver la página de "APÉNDICES")

Se facilitan datos representativos solo a modo de ejemplo. El rendimiento obtenido en los distintos laboratorios puede variar.

10.1 Sensibilidad

10.1.1 Sensibilidad Analítica: 10.63 nmol/L

10.1.2 Sensibilidad funcional: 16,71 nmol/L

10.2 Especificidad

El anticuerpo usado en el inmunoanálisis es altamente específico para la T4. Este presentó niveles extremadamente bajos de reacción cruzada con otras moléculas relacionadas (L-T3).

10.3 Reproducibilidad

10.3.1 Intra-análisis

Las muestras de suero se evaluaron 25 veces en las mismas series. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 3.29 %.

10.3.2 Inter-análisis

Las muestras de suero se evaluaron en duplicado en 10 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 7.53 %.

10.4 Precisión

10.4.1 Prueba de dilución

Muestras de suero de concentración elevada han sido diluidas con el calibrador cero del equipo. Los porcentajes recuperados fueron entre 88.1% y 112% para suero.

10.4.2 Prueba de recuperación

Las muestras de suero se igualaron con cantidades conocidas de TT4. Los porcentajes recuperados fueron entre 81.0% y 107% para suero

10.5 Rango de medida (a partir de la sensibilidad analítica del calibrador más alto): desde 10.63 hasta aproximadamente 400 nM.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El no respetar las instrucciones de uso puede afectar significativamente a los resultados.

Los resultados deben ser interpretados con la luz de la presentación clínica total del paciente, incluyendo su historia clínica, los datos de pruebas adicionales y las otras informaciones apropiadas.

No utilice muestras hemolizadas, ictericas o lipémicas.

En los ensayos en los que se utilizan anticuerpos existe la posibilidad de que se produzcan interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado en contacto regularmente con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos.

Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos.

Evaluar cuidadosamente los resultados de los pacientes que se sospeche que pueden tener esos anticuerpos.

6.2 PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.

PASO 1 Adiciones*	PASO 2 Incubación	PASO 3 Cuento
A los tubos recubiertos de anti-cuerpo agregar sucesivamente: - 20 µL de calibradores , controles o muestras, - 500 µL de Trazador. Mezclar.	Incubar 60 min. entre 18-25°C con agitación (>280 rpm).	Aspirar cuidadosamente el contenido de los tubos (excepto los dos tubos "cpm total"). Determinar las cpm incorporadas (B) y las cpm totales (T) por 1 min.

*Adicionar 500 µL de trazador a 2 tubos adicionales para obtener las cpm totales.



ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ IN VITRO ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΘΥΡΟΞΙΝΗΣ (TT4) ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΑ



ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η ανοσοραδιομετρική εξέταση της ολικής θυροξίνης (TT4) είναι μια εξέταση ανταγωνισμού. Τα δείγματα και τα βαθμονομητές επωάζονται με την T4 που είναι επισημασμένη με Ιώδιο 125, ως ιχνηθέτης, σε σωληνάρια επιστρωμένα με αντισώματα. Μετά την επώαση, αποχύνονται τα υγρά περιεχόμενα των σωληναρίων και η ποσότητα της δεσμευμένης ραδιενέργειας μετράται σε gamma counter. Κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη και οι άγνωστες τιμές προσδιορίζονται με παρεμβολή στην καμπύλη αυτή.

2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του kit, όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C. Οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων αφορούν αποκλειστικά στη μακροπρόθεσμη αποθήκευση των αντιδραστηρίων από τον κατασκευαστή, πριν από τη συναρμολόγηση του kit. Να μη λαμβάνονται υπόψη. Οι όροι αποθήκευσης για τα αντιδραστήρια μετά από την ανασύσταση είναι υποδειγμένοι στην παράγραφο Διαδικασία Εξέτασης.

2.1 Kit για ποσοτικό προσδιορισμό της ολικής T4, 100 σωληνάρια (Cat. #1447)

2.1.1 Σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της T4: 2 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση)

2.1.2 Ιχνηθέτης T4 επισημασμένο με ¹²⁵I: 1 φιαλίδιο των 55 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 110 kBq επισημασμένου με ¹²⁵I T4 σε ρυθμιστικό που περιέχει πρωτεΐνες, αζίδιο του Νατρίου (<0.1 %, βλ. § Προφυλάξεις) και μια χρωστική.

2.1.3 Βαθμονομητής: 6 φιαλίδια του 0.5 mL (έτοιμα προς χρήση)

Τα βαθμονομητές φιαλίδια περιέχουν μεταξύ 0 μέχρι κατά προσέγγιση 400 nmol/L T4 σε ανθρώπινο ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0.1%; βλ. § Προφυλάξεις). Η ακριβής συγκέντρωση αναγράφεται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου. Τα βαθμονομητές είναι βαθμονομημένα με βάση το διεθνές πρότυπο IRMM-468.

2.1.4 Ορός ελέγχου: 2 φιαλίδια (αφυδατωμένο)

Τα φιαλίδια περιέχουν T4 αφυδατωμένη σε ανθρώπινο ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0.1%; βλ. § Προφυλάξεις). Οι αναμενόμενες τιμές είναι στη σειρά συγκέντρωσης που αναγράφεται στο συμπλήρωμα.

2.2 Kit για ποσοτικό προσδιορισμό της ολικής T4, 400 σωληνάρια (Cat. #3286)

2.2.1 Σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της T4: 8 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση)

2.2.2 Ιχνηθέτης T4 επισημασμένο με ¹²⁵I: 4 φιαλίδια των 55 mL (έτοιμα προς χρήση)

2.2.3 Βαθμονομητής: 6 φιαλίδια του 0.5 mL (έτοιμα προς χρήση)

2.2.4 Ορός ελέγχου: 2 φιαλίδια (αφυδατωμένο)

3. ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΕΤΑΙ

Ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, επιπλέον του συνήθους, είναι ο εξής :

- μικροπιπέτες ακριβείας (20 µL).
- ημιαυτόματες πιπέτες (500 µL).
- μίξερ τύπου vortex.
- shaker με οριζόντια πλατφόρμα παλινδρόμησης ή με πλατφόρμα ταλάντωσης.
- σύστημα απόχυσης
- gamma counter σερ για Ιώδιο 125.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

4.1 Γενικές παρατηρήσεις

- Τα φιαλίδια των ορών βαθμονόμησης και των ορών ελέγχου πρέπει να ανοίγονται όσο το δυνατόν λιγότερο, προς αποφυγήν εξατμίσεως του περιεχομένου.
- Μην ανακατεύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Κάνετε ταυτόχρονα την πρότυπη καμπύλη και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.
- Σας συστήνεται να πραγματοποιείτε δύο φορές τον κάθε προσδιορισμό.
- Κάθε σωληνάριο μόνο για μια χρήση.

4.2 Βασικοί κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία

Η αγορά, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά του ραδιενεργού υλικού υπόκεινται στους κανονισμούς της χώρας στην οποία το υλικό αυτό χρησιμοποιείται. Η συμμόρφωση με τους βασικούς κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία παρέχει επαρκή προστασία:

- Υπό την παρουσία ραδιενεργών υλικών μην καταναλώνετε τρόφιμα ή ποτά, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά.
- Μη χρησιμοποιείτε το στόμα για να πιπετάρετε τα ραδιενεργά υλικά.
- Αποφύγετε κάθε άμεση επαφή με τα ραδιενεργά υλικά, και χρησιμοποιείτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
- Κάθε χειρισμός ραδιενεργού υλικού πρέπει να γίνεται σε κατάλληλο χώρο, μακριά από διαδρόμους και άλλα πολυσύχναστα μέρη.
- Τα ραδιενεργά προϊόντα πρέπει να φυλάσσονται στον προκαθορισμένο για τη χρήση αυτή χώρο.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Ο εργαστηριακός εξοπλισμός ή τα γυάλινα σκεύη που έχουν μολυνθεί από ραδιενεργά υλικά πρέπει να απομονώνονται, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση από διαφορετικά ραδιοϊσότοπα.
- Κάθε περίπτωση ραδιενεργής μόλυνσης ή απώλειας ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να επιλύεται με βάση τις ισχύουσες διαδικασίες.
- Ο χειρισμός των ραδιενεργών αποβλήτων πρέπει να ακολουθεί τους κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιείται το ραδιενεργό υλικό.

4.3 Αζίδιο του Νατρίου

Κάποια αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του Νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το χαλκό ή το μόλυβδο προς το σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων των μετάλλων. Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται μέσα από το υδραυλικό σύστημα, χρησιμοποιώντας μεγάλες ποσότητες νερού.

4.4 Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Τα ανθρώπινης προέλευσης υλικά που περιέχονται στα αντιδραστήρια του kit βρέθηκαν αρνητικά σε ότι αφορά στα αντισώματα αντι-HIV 1 και HIV 2, στα αντισώματα HCV και το επιφανειακό αντιγόνο της Ηπατίτιδας Β (HBsAg). Παρόλα αυτά, ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται σαν να ήταν ικανά να μεταδώσουν τις ασθένειες.

Δεν υπάρχει γνωστή μέθοδος ελέγχου που να διασφαλίζει με απόλυτη βεβαιότητα την απουσία ιών. Χειριστείτε αυτό το kit λαμβάνοντας όλες τις απαραίτητες προφυλάξεις.

Όλα τα δείγματα ορού και πλάσματος πρέπει να τα χειρίζεστε ως ικανά να μεταδώσουν ηπατίτιδα ή AIDS. Δημιουργημένο απόρριμμα να εκκαθαρισθεί σύμφωνα με ισχύω κανονισμό.

5. ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Συλλέξτε το αίμα σε στεγνά σωληνάρια ή σωληνάρια με EDTA.
- Διαχωρίστε τον ορό ή το πλάσμα από τα κύτταρα με φυγοκέντρηση.
- Τα δείγματα ορού ή πλάσματος μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8°C, αν η εξέταση πρόκειται να γίνει σε 24 ώρες. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, είναι προτιμότερο να διατηρούνται στην κατάψυξη (<-20°C, 1 μήνα) και κατά προτίμηση χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.

Τιμές ορού και EDTA πλάσματος από 15 δείγματα (δείγματα ορού κυμαίνονται από 71.08 μέχρι 167.32 nmol/L) συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας IM1447 TT4 RIA αντιδραστήριο. Τα αποτελέσματα παραθέτονται παρακάτω:

$$[\text{πλάσμα}] = 0.6673 [\text{ορός}] + 22.12;$$

$$r = 0.9749$$

6. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

6.1 Ανασύσταση του ορού ελέγχου

Το περιεχόμενο των φιαλιδίων πρέπει να φτάσει σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την ανασύσταση με το όγκο απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα φιαλιδίου. Περιμένετε 10 λ. μετά από την ανασύσταση και ανακατέψτε ελαφρά στο vortex για να μη αφρίσει πριν την διανομή. Τα ανασυνιστημένα διαλύματα διατηρούνται στους 2-8°C για μια εβδομάδα ή σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 18°C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit, αφού χωρίσετε σε μικρότερες ποσότητες.

6.2 Διαδικασία εξέτασης (βλέπε τον πίνακα στην επόμενη σελίδα)

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίζονται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων TT4 σε δείγματα που μετρώνται ταυτόχρονα με τα βαθμονομητές.

7.1 Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται σε αυτό το φυλλάδιο υπολογίστηκαν με τη χρήση logit-log καμπύλης προσαρμογής (ζυγισμένη κυβική παλινδρόμηση) με το λόγο B/T (%) ή B/B₀ (%) στον κάθετο άξονα, και τις συγκεντρώσεις TT4 των βαθμονομητών (nmol/L) στον οριζόντιο άξονα. Άλλες μέθοδοι αναγωγής δεδομένων μπορεί να οδηγήσουν σε ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα.

Ολική ραδιενέργεια: cpm 44,140				
Βαθμονομητής	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34,959	77.2	100
1	26	31,590	71.6	90.4
2	53	26,213	59.4	75.0
3	105	17,048	38.6	48.8
4	210	9,727	22.0	27.8
5	420	5,187	11.8	14.8

(Παράδειγμα πρότυπης καμπύλης, να μη χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς)

7.2 Δείγματα

Σημειώστε τον λόγο B/T ή B/B₀ στον κάθετο άξονα, έπειτα το αντίστοιχο σημείο στην καμπύλη και διαβάστε στον οριζόντιο άξονα την αντίστοιχη συγκέντρωση TT4 σε nmol/L.

Για να μετατρέψετε τις συγκεντρώσεις από nmol/L στο ng/dL, πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα με 77.7.

8. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η σωστή εργαστηριακή πρακτική προϋποθέτει την τακτική χρήση δειγμάτων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλίζεται η ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο με τον οποίο γίνεται η επεξεργασία των άγνωστων δειγμάτων. Επιπλέον, συστήνεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων τους να γίνεται με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων.

Σε περίπτωση επιδείνωσης συσκευασίας ή εάν τα αποτελέσματα που προέκυψαν έχουν τροποποίηση απόδοσης, παρακαλώ ελάτε σε επαφή με τον τοπικό διανομέα σας ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: imunochem@beckman.com

9. ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του τιμές αναφοράς. Η κανονική σειρά συγκέντρωσης ολικής T4 τον ορό για ευθυρεοειδισμοί άτομα που δεν έχουν υποβληθεί σε θεραπεία βρέθηκε:

	N	Μέσος όρος, (nmol/L)	Διάμεσος, (nmol/L)	ΠΕΔΙΟ TIM, (nmol/L)	2.5- 97.5 εκατοστημόριο (nmol/L)
Ανδρες	50	118.3	114.7	59.65 - 168.2	74.1-160.3
Γυναίκες	50	96.42	96.76	59.13-141.4	68.91-122.3
Όλοι οι συμμετέχοντες	100	107.4	101.9	59.13-168.2	69.32-159.7

10. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(βλέπε τη σελίδα "APPENDIX" για περισσότερες λεπτομέρειες)

Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα παρέχονται μόνο ως παράδειγμα. Η απόδοση που επιτυγχάνεται σε κάθε εργαστήριο μπορεί να διαφέρει.

10.1 Ευαισθησία

10.1.1 Αναλυτική ευαισθησία: 10.63 nmol/L

10.1.2 Λειτουργική ευαισθησία: 16.71 nmol/L

10.2 Εξειδίκευση

Το αντίσωμα που χρησιμοποιείτε στην ανοσοέξταση είναι υψηλά εξειδικευμένο για την T4. Ακρως χαμηλές διασταυρωτές αντιδράσεις βρέθηκαν σε αρκετά ανάλογα μόρια (π.χ. L-T3).

10.3 Αναπαραγωγισιμότητα

10.3.1 Intra-assay

Δείγματα ορού εξετάστηκαν 25 φορές στην ίδια σειρά. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 3.29 %.

10.3.2 Inter-assay

Δείγματα ορού εξετάστηκαν δύο φορές το καθένα σε 10 διαφορετικές σειρές. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 7.53 %.

10.4 Ακρίβεια

10.4.1 Δοκιμή αραιώσης

Δείγματα ορού υψηλής συγκέντρωσης αραιώθηκαν διαδοχικά στο μηδενικό βαθμονομητή. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονται μεταξύ 88.1 και 112% για τον ορό:

10.4.2 Δοκιμή ανάκτησης

Γνωστές ποσότητες T4 προστέθηκαν σε δείγματα ορού. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονται μεταξύ 81.0 και 107% για τον ορό.

10.5 Εύρος μέτρησης (από αναλυτική ευαισθησία έως τον υψηλότερο βαθμονομητή): από 10.63 μέχρι κατά προσέγγιση 400 nM.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η μη τήρηση των οδηγιών που περιέχονται στο έντυπο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική κλινική παρουσίαση της ασθενούς συμπεριλαμβανομένων της κλινικής ιστορίας, των δεδομένων από συμπληρωματικές εξετάσεις και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Αποφύγετε τη χρήση βαριά αιμόλυση, ικτερικά ή λιπαιμικά δείγματα.

Για προσδιορισμούς που χρησιμοποιούν αντισώματα, υπάρχει πιθανότητα παρεμβολής από ετερόφιλα αντισώματα στο δείγμα του ασθενούς. Οι ασθενείς που ήρθαν σε συχνή επαφή με ζώα ή έκαναν ανοσοθεραπεία ή διαγνωστικές επεμβάσεις με τη βοήθεια ανοσοσφαιρίνων ή τμήματα ανοσοσφαιρίνης πιθανόν να παραγάγουν αντισώματα, π.χ. HAMA, που παρεμβάλλουν στους ανοσοπροσδιορισμούς.

Τα εν λόγω παρεμβάλλοντα αντισώματα πιθανόν να προκαλέσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Να αξιολογείτε προσεκτικά τα αποτελέσματα ασθενών που υποπτεύεστε ότι φέρουν αυτά τα αντισώματα.

6.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Αφήστε τα αντιδραστήρια να φτάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.

Βήμα 1 Προσθήκες *	Βήμα 2 Επώαση	Βήμα 3 Μέτρηση
Στα επιστρωμένα σωληνάρια, προσθέστε διαδοχικά: - 20 μL βαθμονομητής, ορού ελέγχου ή δείγματος και - 500 μL ιχνηθέτη. Ανακατέψτε στο vortex.	Επώαστε 1 ώρα στους 18-25 °C με ανάδευση (>280 rpm).	Αποχύστε προσεκτικά το περιεχόμενο των σωληναρίων (εκτός από τα δύο σωληνάρια «ολικές κρούσεις »). Μετρήστε τις δεσμευμένες κρούσεις (B) και τις ολικές κρούσεις (T) για 1 λεπτό.

* Προσθέστε 500 μL ιχνηθέτη στα 2 επιπλέον σωληνάρια για να βρείτε τις ολικές κρούσεις.

**IN VITRO RADIOIMUNOANALYTICKÉ STANOVENÍ
CELKOVÉHO TYROXINU (TT4) V LIDSKÉM SÉRU A PLAZMĚ**

1. PRINCIP METODY

Radioimunoanalytické stanovení celkového tyroxinu (TT4) je kompetitivní stanovení. Neznámé vzorky a kalibrátory se inkubují spolu se ¹²⁵I-tyroxinem jako radioindikátorem ve zkumavkách potažených protilátkou. Po inkubaci se obsah zkumavek odsaje a navázaná aktivita se změří gama-čítačem. Sestrojí se kalibrační křivka a z ní se odečtou koncentrace TT4 v neznámých vzorcích.

2. REAGENCIE

Všechny reagenty v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Data expirace uvedené na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování u výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Skladovací podmínky pro rekonstituované reagenty jsou uvedeny v kapitole 6. Postup stanovení.

2.1 Souprava pro stanovení TT4, 100 zkumavek (Kat. č. 1447)

2.1.1 Zkumavky potažené protilátkou proti tyroxinu: 2x 50 kusů; připraveny k použití.

2.1.2 ¹²⁵I-tyroxin: 1 lahvička (55 mL); připraven k použití. Lahvička obsahuje ke dni výroby 110 kBq ¹²⁵I značeného T4 v tlumivém roztoku s proteiny, azidem sodným (<0,1%, viz kap. Upozornění) a barvivem.

2.1.3 Kalibrátory: 6 lahviček (po 0,5 mL); připraveny k použití. Lahvičky obsahují od 0 do přibližně 400 nmol/L tyroxinu v lidském séru s azidem sodným (<0,1%, viz kap. Upozornění). Přesné koncentrace jsou uvedeny na štítcích lahviček. Kalibrátory jsou kalibrovány na standard IRMM-468.

2.1.4 Kontrolní vzorky: 2 lahvičky; lyofilizáty. Lahvičky obsahují T4, lyofilizovaný v lidském séru s azidem sodným (<0,1%, viz kap. Upozornění). Koncentrační rozsah očekávaných hodnot je uveden v příloze návodu.

2.2 Souprava pro stanovení TT4, 400 zkumavek (Kat. č. 3286)

2.2.1 Zkumavky potažené protilátkou proti tyroxinu: 8x 50 kusů; připraveny k použití.

2.2.2 ¹²⁵I-tyroxin: 4 lahvičky (po 55 mL); připraveny k použití.

2.2.3 Kalibrátory: 6 lahviček (po 0,5 mL); připraveny k použití.

2.2.4 Kontrolní vzorky: 2 lahvičky; lyofilizáty.

3. ZAŘÍZENÍ A POTŘEBNÝ MATERIÁL

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- přesná mikropipeta (20 µL),
- poloautomatická pipeta (500 µL),
- vibrační míchadlo,
- horizontální nebo orbitální třepačka,
- vývěva,
- gama-čítač kalibrován na ¹²⁵I.

4. UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ
4.1 Obecné poznámky:

- lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky by měly být otevřeny co nejkratší dobu, aby nedošlo k nežádoucímu odpaření roztoku,
- nemíchejte substance ze souprav různých šarží,
- ke každé řadě stanovení je třeba vždy stanovit novou kalibrační závislost,
- doporučuje se provádět stanovení v duplikátech,
- zkumavky jsou pouze na jedno použití,
- veškerý odpad je třeba likvidovat v souladu s příslušným zákonem.

4.2 Základní pravidla radiační bezpečnosti

Tato souprava obsahuje radioaktivní materiál, který mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracovníci, kteří splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zřetězeními.

Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- všechny radioaktivní látky musí být skladovány v původním balení a jen na místech k tomu určených,
- příjem a spotřeba radioaktivních látek musí být evidována,
- práce s radioaktivními látkami musí být prováděny pouze ve vyhrazených prostorách,
- pipetování nesmí být prováděno ústy,
- v laboratořích určených k práci s radioaktivními látkami je zakázáno jíst, pít, kouřit, líčit se a pod.,
- zabraňte přímému styku radioaktivních látek s pokožkou a používejte ochranných oděvů a rukavic. Po skončení práce s těmito látkami si vždy umyjte ruce,
- obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek,
- povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat,
- v případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů
- všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.

4.3 Azid sodný

Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, mědí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagenty splachujte velkým množstvím vody.

4.4 Biologický materiál lidského původu

Materiál lidského původu obsažený v reagentech této soupravy měl negativní test na přítomnost protilátek proti viru HIV 1 a 2, viru hepatitidy C a proti povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAg). Žádná z dostupných metod nemůže dát stoprocentní jistotu neinfekčnosti. Je tedy nutné pracovat s těmito reagenty jako s potenciálně infekčními.

Se všemi vzorky séra a plazmy musí být manipulováno jako s potenciálně infekčními (hepatitis, nebo AIDS). Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

5. SBĚR, PŘÍPRAVA A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

- Odebírejte vzorky krve do zkumavek bez aditiv nebo s EDTA.
- Odstředěním oddělte sérum nebo plazmu.
- Vzorky séra a plazmy lze skladovat při 2-8 °C, jestliže bude stanovení provedeno do 24 hodin. Při delším skladování (maximálně 1 měsíc) je nutno vzorky zamrazit při <-20 °C nejlépe v alikvotech, aby se předešlo opakovanému rozmrazování a zmrazování. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.

Soupravou IM1447 bylo porovnáno 15 dvojic vzorků séra a EDTA-plazmy (hodnoty sér byly od 71,08 nmol/L do 167,32 nmol/L.) Výsledky dávají rovnici:

$$[\text{EDTA-plazma}] = 0,6673 [\text{sérum}] + 22,12$$

$$r = 0,9749$$

6. POSTUP STANOVENÍ
6.1 Příprava kontrolních vzorků

Po vyteperování na laboratorní teplotu se obsah lahviček rozpustí v destilované vodě, jejíž objem je uveden na štítku lahvičky. Po přidání vody nechejte kontrolní vzorky volně rozpouštět 10 minut a potom lehce bez napěnění promíchejte. Rozpuštěné kontrolní vzorky je možno skladovat 1 týden při 2-8 °C nebo v alikvotech zmrazené při <-18°C do data expirace soupravy. Zabráňte opakovanému zmražení a rozmražení.

6.2 Schéma postupu (viz tabulka uvedená na další straně)
7. VÝSLEDKY

Výsledky jsou získány proložením z kalibrační křivky. Křivka slouží k určení koncentrace TT4 pouze ve vzorcích měřených současně s kalibrátory.

7.1 Kalibrační křivka

Výsledky uvedené v návodu byly získány v logit-log zobrazení (s použitím vážených kubické regrese). Na vertikální osu bylo vyneseno B/T (%) nebo B/B₀ (%) a na horizontální osu byly vyneseny koncentrace TT4 v kalibrátorech (nmol/L). Jiné metody zpracování mohou dávat mírně odlišné výsledky.

Total cpm: 44 140 cpm				
Kalibrátor	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34 959	77,2	100
1	26	31 590	71,6	90,4
2	53	26 213	59,4	75,0
3	105	17 048	38,6	48,8
4	210	9 727	22,0	27,8
5	420	5 187	11,8	14,8

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

7.2 Vzorky

Na vertikální ose lokalizujte pro každý vzorek hodnoty B/T nebo B/B₀ (%) a na horizontální ose odečtěte odpovídající koncentrace TT4 v nM.

Přepočet koncentrací z nmol/L (nM) na ng/dL se provede vynásobením výsledků faktorem 77,7.

8. KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá, že se kontrolní vzorek používá v každé kalibraci, aby se zajistila kontrola kvality získaných výsledků. Kontrolní vzorky musí být zpracovány stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

V případě závažného poškození obalu, nebo jestliže získané výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení (viz kap. 10), kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

9. OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní rozmezí referenčních hodnot. U neléčených eutyroidních osob byla touto soupravou stanovena normální oblast koncentrace celkového tyroxinu:

	N	Průměr, (nmol/L)	Medián, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2,5.- 97,5. percentil (nmol/L)
Muži	50	118,3	114,7	59,65 - 168,2	74,1-160,3
Ženy	50	96,42	96,76	59,13-141,4	68,91-122,3
Všichni	100	107,4	101,9	59,13-168,2	69,32-159,7

10. ANALYTICKÉ PARAMETRY STANOVENÍ

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Vzorová data slouží pouze k ilustrativním účelům. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

10.1 Citlivost

10.1.1 Analytická citlivost: 10,63 nmol/L

10.1.2 Funkční citlivost: 16,71 nmol/L

10.2 Specifita

Protilátka použitá v systému je vysoce specifická pro tyroxin. Ostatní přirozeně se vyskytující hormony (L-T3 aj.) dávají extrémně nízkou zkříženou reakci.

10.3 Přesnost

10.3.1 Intra-assay

Přesnost intra-assay byla stanovena 25krát opakovanou analýzou vzorků séra. Hodnota variačního koeficientu byla menší nebo rovna 3,29 %.

10.3.2 Inter-assay

Vzorky séra byly analyzovány v duplikátech v 10 nezávislých analýzách. Hodnota variačního koeficientu byla menší nebo rovna 7,53 %.

10.4 Správnost

10.4.1 Test ředění

Vzorky séra se zvýšenou koncentrací TT4 byly postupně ředěny nulovým kalibrátorem. Percento recovery se pohybovalo mezi 88,1 % a 112 % pro sérum.

10.4.2 Recovery test

Různá množství T4 byla přidávána ke vzorkům séra, a ty pak byly analyzovány. Percento recovery se pohybovalo mezi 81,0 % a 107 %.

10.5 Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru):

10,63 do přibližně 400 nM.

11. OMEZENÍ POUŽITÍ SOUPRAVY

Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům.

Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.

Nepoužívejte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.

U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních.

Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.

6.2 SCHÉMA POSTUPU STANOVENÍ

Nechte reagentie před pipetací vytemperovat na lab. teplotu.

Krok 1 Pipetace*	Krok 2 Inkubace	Krok 3 Měření
Do potažených zkumavek postupně přidejte: -20 µL kalibrátoru, kontrolního nebo neznámého vzorku a -500 µL radioindikátoru. Promíchejte.	Inkubujte 1 hod. při 18-25 °C, za stálého třepání (>280 kmitů/min.).	Opatrně odsajte obsah každé zkumavky (s výjimkou 2 zkumavek pro „total“). Měřte po dobu 1 min. vázanou aktivitu (B) a celkovou aktivitu (T).

* Napipetujte po 500 µL radioindikátoru do 2 nepotažených zkumavek pro zjištění celkové aktivity (T).

**IN VITRO RÁDIOIMUNOANALYTICKÉ STANOVENIE
CELKOVÉHO TYROXÍNU (TT4) V ĽUDSKOM SÉRE A PLAZME**

1. PRINCÍP METÓDY

Rádioimunoanalytické stanovenie celkového tyroxínu (TT4) je kompetitívne stanovenie. Neznáme vzorky a kalibrátory sa inkubujú spolu s ¹²⁵I-tyroxínom ako rádioindikátorom v skúmavkách potiahnutých protilátkou. Po inkubácii sa obsah skúmaviek odsaje a naviazaná aktivita sa zmeria gama-meračom. Zostrojí sa kalibračná krivka a z nej sa odčítajú koncentrácie TT4 v neznámych vzorkách.

2. REAGENCIE

Všetky reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Dátumy expirácií uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Skladovacie podmienky pre rekonštituované reagenty sú uvedené v kapitole 6. Postup stanovenia.

2.1 Súprava na stanovenie TT4, 100 skúmaviek (Kat. č. 1447)

2.1.1 Skúmavky potiahnuté protilátkou proti tyroxínu: 2x 50 kusov; pripravené na použitie.

2.1.2 ¹²⁵I-tyroxín: 1 fľaštička (55 mL); pripravená na použitie. Fľaštička obsahuje ku dnu výroby 110 kBq ¹²⁵I označeného T4 v tlumivom roztoku s proteínmi, azidom sodným (<0,1%, viď kap. Upozornenie) a farbivom.

2.1.3 Kalibrátory: 6 fľaštičiek (po 0,5 mL); pripravené na použitie. Fľaštičky obsahujú od 0 do približne 400 nmol/L tyroxínu v ľudskom sére s azidom sodným (<0,1%, viď kap. Upozornenie). Presné koncentrácie sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Kalibrátory sú kalibrované na štandard IRMM-468.

2.1.4 Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky; lyofilizáty. Fľaštičky obsahujú T4 lyofilizovaný v ľudskom sére s azidom sodným (<0,1%, viď kap. Upozornenie). Koncentračný rozsah očakávaných hodnôt je uvedený v prílohe návodu.

2.2 Súprava na stanovenie TT4, 400 skúmaviek (Kat. č. 3286)

2.2.1 Skúmavky potiahnuté protilátkou proti tyroxínu: 8x 50 kusov; pripravené na použitie.

2.2.2 ¹²⁵I-tyroxín: 4 fľaštičky (po 55 mL); pripravené na použitie.

2.2.3 Kalibrátory: 6 fľaštičiek (po 0,5 mL); pripravené na použitie.

2.2.4 Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky; lyofilizáty.

3. ZARIADENIE A POTREBNÝ MATERIÁL

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- presná mikropipeta (20 µL),
- poloautomatická pipeta (500 µL),
- vibračné miešadlo,
- horizontálna alebo orbitálna trepačka,
- výveva,
- gama-merač kalibrovaný na ¹²⁵I.

4. UPOZORNENIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA
4.1 Obecné poznámky:

- fľaštičky s kalibrátormi a kontrolnými vzorkami by mali byť otvorené čo najkratšiu dobu, aby nedošlo k nežiaducemu odpareniu roztoku,
- nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží,
- ku každému radu stanovení je treba vždy stanoviť novú kalibračnú závislosť,
- doporučuje sa robiť stanovenia v duplikátoch,
- skúmavky sú iba na jedno použitie,
- všetok odpad treba likvidovať v súlade s príslušným zákonom.

4.2 Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Táto súprava obsahuje rádioaktívny materiál, ktorý môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktorí spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými žiaričmi.

Pri práci s rádioaktívnymi látkami dodržujte nasledujúce pravidlá:

- všetky rádioaktívne látky sa musia skladovať v pôvodnom balení a iba na miestach k tomu určených,
- príjem a spotreba rádioaktívnych látok musí byť evidovaná,
- s rádioaktívnymi látkami sa môže pracovať iba vo vyhradených priestoroch,
- nesmie sa pipetovať ústami,
- v laboratóriách určených na prácu s rádioaktívnymi látkami je zakázané jesť, piť, fajčiť, líčiť sa a pod.,
- zabráňte priamemu styku rádioaktívnych látok s pokožkou a používajte ochranné odevy a rukavice. Po skončení práce s týmito látkami si vždy umyte ruky,
- obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek,
- povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať,
- v prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov
- všetko laboratórne sklo, ktoré bolo použité pri práci s rádioaktívnymi látkami, musí byť riadne dekontaminované a premerané pred ďalším použitím.

4.3 Azid sodný

Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagenty splachujte veľkým množstvom vody.

4.4 Biologický materiál ľudského pôvodu

Materiál ľudského pôvodu obsiahnutý v reagentoch tejto súpravy mal negatívny test na prítomnosť protilátok proti vírusu HIV 1 a 2, vírusu hepatitídy C a proti povrchovému antigénu hepatitídy B (HBsAg). Žiadna z dostupných metód nemôže dať stopercentnú istotu neinfekčnosti. Je teda nutné pracovať s týmito reagentami ako s potenciálne infekčnými.

So všetkými vzorkami séra a plazmy sa musí manipulovať ako s potenciálne infekčnými (hepatitís alebo AIDS). Všetok vzniknutý odpad treba likvidovať podľa platných predpisov.

5. ZBER, PRÍPRAVA A SKLADOVANIE VZORIEK

- Odoberajte vzorky krvi do skúmaviek bez aditív alebo s EDTA.
- Odstreďením oddelíte sérum alebo plazmu.
- Vzorky séra a plazmy možno skladovať pri 2-8 °C, ak sa stanovenie urobí do 24 hodín. Pri dlhšom skladovaní (maximálne 1 mesiac) je nutné vzorky zmraziť pri <-20 °C, najlepšie v alikvótoch, aby sa predišlo opakovanému rozmrazovaniu a zmrazovaniu. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.

Súpravou IM1447 bolo porovnaných 15 dvojíc vzoriek séra a EDTA-plazmy (hodnoty sér boli od 71,08 nmol/L do 167,32 nmol/L). Výsledky dávajú rovnicu:

$$[\text{EDTA-plazma}] = 0,6673 [\text{sérum}] + 22,12$$

$$r = 0,9749$$

6. POSTUP STANOVENIA
6.1 Príprava kontrolných vzoriek

Po vyteperovaní na laboratórnu teplotu sa obsah fľaštičiek rozpustí v destilovanej vode, ktorej objem je uvedený na štítku fľaštičky. Po pridaní vody nechajte kontrolné vzorky voľne sa rozpúšťať 10 minút a potom ich ľahko, bez napenenia, premiešajte. Rozpustené kontrolné vzorky možno skladovať 1 týždeň pri 2-8 °C alebo v alikvótoch, aby sa predišlo opakovanému rozmrazovaniu a zmrazovaniu, pri <-18 °C do dátumu expirácie súpravy.

6.2 Schéma postupu (viď tabuľka uvedená na ďalšej strane)
7. VÝSLEDKY

Výsledky boli získané preložením z kalibračnej krivky. Krivka slúži na určenie koncentrácie TT4 iba vo vzorkách meraných súčasne s kalibrátormi.

7.1 Kalibračná krivka

Výsledky uvedené v návode boli získané v logit-log zobrazení (s použitím väzovej kubickéj regresie). Na vertikálnu os bolo vynesené B/T (%) alebo B/B₀ (%) a na horizontálnu os boli vynesené koncentrácie TT4 v kalibrátoroch (nmol/L). Iné metódy spracovania môžu dávať mierne odlišné výsledky.

Total cpm: 44 140 cpm				
Kalibrátor	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34 959	77,2	100
1	26	31 590	71,6	90,4
2	53	26 213	59,4	75,0
3	105	17 048	38,6	48,8
4	210	9 727	22,0	27,8
5	420	5 187	11,8	14,8

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

7.2 Vzorky

Na vertikálnu os lokalizujte pre každú vzorku hodnoty B/T alebo B/B₀ (%) a na horizontálnej osi odčítajte odpovedajúce koncentrácie TT4 v nM.

Prepočet koncentrácií z nmol/L (nM) na ng/dL sa urobí vynásobením výsledkov faktorom 77,7.

8. KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá, že kontrolná vzorka sa používa v každej kalibrácii, aby sa zaistila kontrola kvality získaných výsledkov. Kontrolné vzorky musia byť spracované rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a na vyhodnotenie výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovení (viď kap. 10), kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

9. OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastné rozmedzie referenčných hodnôt. U neliečených eutyroidných osôb bola touto súpravou stanovená normálna oblasť koncentrácie celkového tyroxínu:

	N	Priemer, (nmol/L)	Medián, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2,5.- 97,5. percentil (nmol/L)
Muži	50	118,3	114,7	59,65 - 168,2	74,1-160,3
Ženy	50	96,42	96,76	59,13-141,4	68,91-122,3
Všeci	100	107,4	101,9	59,13-168,2	69,32-159,7

10. ANALYTICKÉ PARAMETRE STANOVENIA

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Vzorové dáta slúžia iba k informačným účelom. Výsledky získané v jednotlivých laboratóriách sa môžu líšiť.

10.1 Citlivosť

10.1.1 Analytická citlivosť: 10,63 nmol/L

10.1.2 Funkčná citlivosť: 16,71 nmol/L

10.2 Špecifita

Protilátka použitá v systéme je vysoko špecifická pre tyroxín. Ostatné prirodzené sa vyskytujúce hormóny (L-T3 a i.) dávajú extrémne nízku skríženú reakciu.

10.3 Presnosť

10.3.1 Intra-assay

Presnosť intra-assay bola stanovená 25-krát opakovanou analýzou. Hodnota variačného koeficienta bola menšia alebo rovná 3,29 %.

10.3.2 Inter-assay

Vzorky séra boli analyzované v duplikátoch v 10 nezávislých analýzach. Hodnota variačného koeficienta bola menšia alebo rovná 7,53 %.

10.4 Správnosť

10.4.1 Test riedenia

Vzorky séra so zvýšenou koncentráciou TT4 sa postupne riedili nulovým kalibrátorom a vzorky sa potom analyzovali. Percento recovery sa pohybovalo medzi 88,1 % a 112 %.

10.4.2 Recovery test

Ku vzorkám séra sa pridalo niekoľko rôznych koncentrácií TT4 a zorky sa potom analyzovali. Percento recovery sa pohybovalo medzi 81,0 % a 107 %.

10.5 Rozsah merania (od analytickej citlivosti po najvyšší kalibrátor):

10,63 do približne 400 nM.

11. OBMEDZENIE POUŽITIA SÚPRAVY

Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom.

Výsledky stanovenia by sa mali interpretovať v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.

Nepoužívajte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.

Pri stanoveniach využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v patientskej vzorke. Pacienti, ktorí pravidelne prichádzali do kontaktu so zvieratami alebo užívali imunoterapiu, prípadne podstúpili diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky, napríklad ľudské protilátky proti myším proteínom (HAMA), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach.

Také interferujúce protilátky môžu mať za následok chybné výsledky. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatrnosťou.

6.2 SCHÉMA POSTUPU STANOVENIA

Nechajte reagenty pred pipetovaním vyteperovať na lab. teplotu.

Krok 1 Pipetácia*	Krok 2 Inkubácia	Krok 3 Meranie
Do potiahnutých skúmaviek postupne pridajte: -20 µL kalibrátora, kontrolnej alebo neznámej vzorky a -500 µL rádioindikátora. Premiešajte.	Inkubujte 1 hod. pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min.).	Opatrne odsajte obsah každej skúmavky (s výnimkou 2 skúmaviek pre „total“). Merajte po dobu 1 min. viazanú aktivitu (B) a celkovú aktivitu (T).

* Napipetujte po 500 µL rádioindikátora do 2 nepotiahnutých skúmaviek na zistenie celkovej aktivity (T).



НАБОР ДЛЯ РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОГО IN VITRO ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО ТИРОКСИНА (ТТ4) В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА



1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Радиоиммунологическое определение общего тироксина (ТТ4) относится к конкурентным видам анализа. Исследуемые образцы и калибровочные пробы инкубируют со ¹²⁵I-Т4 в пробирках, покрытых антителами. Затем удаляют содержимое пробирок и измеряют связанную активность ¹²⁵I. Концентрацию Т4 определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

2. РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектования набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

Условия хранения после растворения и разбавления реагентов указаны в разделе "Процедура анализа".

2.1 Набор для определения общего Т4, 100 пробирок (Кат. №1447)

2.1.1 Пробирки, покрытые моноклональными антителами к Т4: 2 x 50 шт (готовы к использованию)

2.1.2 Метка, ¹²⁵I-Т4: 1 флакон, 55 мл (готова к использованию) На дату изготовления флакон содержит 110 кБк ¹²⁵I-Т4 в буфере с белком, азидом натрия (<0,1%; см. п. Меры предосторожности) и красителем.

2.1.3 Калибровочные пробы: 6 флаконов по 0,5 мл (готовы к использованию) Калибровочные пробы содержат Т4 в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 400 нмоль/л в сыворотке крови человека с азидом натрия (< 0,1 %; см. п. Меры предосторожности). Точные концентрации, калиброванные по стандарту IRMM-468, указаны на этикетках флаконов.

2.1.4 Контрольная сыворотка: 2 флакона (лиофилизированные препараты) Флаконы содержат лиофилизированную сыворотку крови человека с известным содержанием Т4 с азидом натрия (< 0,1 %; см. п. Меры предосторожности). Ожидаемые диапазоны концентраций указаны на дополнительном листке-вкладыше.

2.2 Набор для определения общего Т4, 400 пробирок (Кат. № 3286)

2.2.1 Пробирки, покрытые моноклональными антителами к Т4: 8 x 50 шт. (готовы к использованию)

2.2.2 Метка, ¹²⁵I-Т4: 4 флакона по 55 мл (готова к использованию)

2.2.3 Калибровочные пробы: 6 флаконов по 0,5 мл (готовы к использованию)

2.2.4 Контрольная сыворотка: 2 флакона (лиофилизированные препараты)

3. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- микропипетки (20 мкл)
- полуавтоматические пипетки (500 мкл)
- вихревой смеситель типа Vortex
- горизонтальный или орбитальный встряхиватель
- водоструйный насос
- гамма-счетчик для измерения активности ¹²⁵I.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Общие замечания:

- Флаконы с калибраторами и контролями следует открывать непосредственно перед использованием, во избежание чрезмерного испарения.
- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Анализ калибровочных и неизвестных проб должен проводиться одновременно.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Пробирки предназначены для однократного использования.

4.2 Основные правила обращения с радиоактивными веществами

- Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.
- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
- Не пипетировать растворы радиоактивных веществ ртом.

- Для ограничения контакта с радиоактивными материалами рекомендуется использовать разовые перчатки и лабораторную спецодежду.
- Все манипуляции с радиоактивными веществами следует проводить в специально оборудованных для этого помещениях, удаленных от мест постоянного пребывания людей.
- Радиоактивные вещества следует хранить с использованием контейнеров в специально отведенных для этого местах.
- Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
- Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
- Любой случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.
- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

4.3 Азид натрия

Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латуной, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

4.4 Материал человеческого происхождения

Материал человеческого происхождения, входящий в состав компонентов набора, не содержит антител к HIV 1, HIV 2, HCV и к поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg). Тем не менее, ни один из существующих методов анализа не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому при работе с компонентами набора следует соблюдать необходимые меры предосторожности.

С исследуемыми образцами сыворотки крови следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом, могущим содержать вирусы СПИД и гепатита. Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

5. ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Собрать кровь в чистые сухие пробирки, или пробирки с ЭДТА.
- Отделить сыворотку или плазму крови центрифугированием.
- Образцы сыворотки и плазмы можно хранить при 2-8°C в течение 24 часов. Для более длительного хранения (до 1 месяца) их необходимо разделить на аликвоты и заморозить при температуре < -20°C. Избегать повторного замораживания-оттаивания проб. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.

Используя набор IM1447 ТТ4 RIA сравнили результаты исследований сыворотки и плазмы с ЭДТА в 15 образцах (диапазон значений в сыворотке от 71,08 до 167,32 нг/мл). Были получены результаты:

$$[\text{плазма с ЭДТА}] = 0,6673[\text{сыворотка}] + 22,12;$$

$$r = 0,9749$$

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

6.1 Растворение контрольных сывороток

Довести флаконы с контрольными сыворотками до комнатной температуры и растворить их содержимое в объеме дистиллированной воды, указанной на этикетке. Через 10 минут аккуратно перемешать, избегая образования пены. Растворенные контрольные сыворотки можно хранить при 2-8°C в течение 1 недели, или разделенными на аликвоты при <-18°C до окончания срока годности набора. Избегать повторного замораживания-оттаивания проб.

6.2 Процедура анализа (см. таблицу приведенную ниже)

7. РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом неизвестных образцов.

7.1 Калибровочная кривая

Результаты контроля качества набора, приведенные в этой инструкции, получены при построении калибровочной кривой в координатах logit-log (взвешенная кубическая регрессия) с соотношением В/Т (%) или В/В₀ (%) по вертикальной оси и концентрацией Т4 (нмоль/л) по горизонтальной оси калибровочного графика. Другие методы подсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет: 44 140 имп./мин.				
Калибровочные пробы	ТТ4 (нмоль/л)	Имп./мин. (n=3)	В/Т (%)	В/В ₀ (%)
0	0	34 959	77,2	100
1	26	31 590	71,6	90,4
2	53	26 213	59,4	75,0
3	105	17 048	38,6	48,8
4	210	9 727	22,0	27,8
5	420	5 187	11,8	14,8

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

7.2 Образцы

Для каждого образца найти на вертикальной оси калибровочного графика значение В/Т (%) или В/В₀ (%), а на горизонтальной оси соответствующую концентрацию Т4 в нмоль/л.

Для перевода концентраций из нмоль/л в нг/100 мл нужно умножить полученный результат на 77,7.

8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов. В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам (см.п.10) обратитесь, пожалуйста, к нашим специалистам: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckmancoulter.com

9. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные уровни Т4, соответствующие нормальным. Ориентировочно, концентрации общего Т4 в сыворотке нелеченых эутиреоидных пациентов составляет:

	N	Среднее значение, (нмоль/л)	Медиана, (нмоль/л)	Диапазон значений, (нмоль/л)	2,5.- 97,5. Перцентиль (нмоль/л)
Мужчины	50	118,3	114,7	59,65 - 168,2	74,1-160,3
Женщины	50	96,42	96,76	59,13-141,4	68,91-122,3
Всего	100	107,4	101,9	59,13-168,2	69,32-159,7

10. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Репрезентативные данные предоставлены исключительно для пояснений. Показатели, полученные в конкретной лаборатории, могут отличаться.

10.1 Чувствительность

10.1.1 Аналитическая чувствительность: 10,63 нмоль/л

10.1.2 Функциональная чувствительность: 16,71 нмоль/л

10.2 Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе, обладают высокой специфичностью к Т4. Перекрестная реакция с близкородственными молекулами (L-T3 и др.) чрезвычайно мала.

10.3 Воспроизводимость

10.3.1 Внутри анализа

Анализ образцов сыворотки проводили в 25 репликатах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации измеренных уровней Т4 в сыворотке крови не превышал 3,29 %.

10.3.2 Между анализами

Анализ образцов в дубликатах проводили в 10 различных сериях определений. Коэффициент вариации измеренных уровней Т4 в сыворотке крови не превышал 7,53 %.

10.4 Точность

10.4.1 Тест на разведение

Образцы с высокой концентрацией ТТ4 серийно разводили "нулевой" калибровочной пробой. Процент «открытия» составил от 88,1 % до 112 % для проб сыворотки.

10.4.2 Тест на открытие стандартной добавки

Известные количества ТТ4 добавляли к образцам. Измеренная величина «открытия» составляла от 81,0 до 107% для проб сыворотки:

10.5 Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы): 10,63 до приблизительно 400 нмоль/л.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Нарушение методики проведения анализа может привести к искажению результатов исследования.

Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию

Не используйте гемолизированные, желтушные или липемические образцы.

При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа.

Влияние этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

6.2 ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Перед использованием довести все реагенты до комнатной температуры.

Стадия 1 Внесение реагентов *	Стадия 2 Инкубация	Стадия 3 Измерение результатов
В покрытые антителами пробирки последовательно внести: - 20 мкл калибровочных проб, контрольных и анализируемых образцов и - 500 мкл метки. Перемешать.	Инкубировать 1 час при 18-25 °C и постоянном встряхивании (>280 осц./мин.).	Тщательно удалить содержимое всех пробирок (кроме проб «Т»). Измерить связанную (В) и общую (Т) активность ¹²⁵ I в течение 1 мин.

* В две дополнительные пробирки внести по 500 мкл метки для оценки общей активности ¹²⁵I (пробы «Т»).



**İNSAN SERUM VE PLAZMASINDA TOTAL TİROKSİN (TT4)*ÜN
IN VITRO TESPİTİ İÇİN RADIOIMMUNOASSAY TESTİTİR****1. TESTİN PRENSİBİ**

Total tiroksin (TT4) radioimmunoassay kiti, bir yarışma deneyidir. Numune ve kalibratörler, antikor-kaplanmış tüplerde, tracer olarak ¹²⁵I-ışaretlenmiş T4 ile birlikte inkübe edilirler. Inkübasyon sonrasında, tüp içeriği aspire edilir ve bağlanmış radyoaktivite ölçülür. Bir kalibrasyon eğrisi oluşturulur ve bilinmeyen değerler interpolasyon yöntemiyle tespit edilirler.

2. SAĞLANAN REAKTİFLER

2-8°C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir. Dilüsyon sonrasındaki reaktif saklama koşulları Test Prosedürü paragrafında verilmiştir.

2.1 Total T4'ün tespiti için kit, 100 tüp (Cat. #1447)**2.1.1 Anti-T4 monoklonal antikor kaplanmış tüpler: 2 x 50 tüp (kullanıma hazır)****2.1.2 ¹²⁵I-ışaretlenmiş T4 tracer: 55 mL bir şişe (kullanıma hazır)**

Şişe üretim tarihinde, proteinler, sodyum asit (<0.1 %, bakınız § Önlemler) ve boya içindeki ¹²⁵I-ışaretlenmiş T4'ten, 110 kBq içerir.

2.1.3 Kalibratörler: 0.5 ml altı şişe (kullanıma hazır)

Kalibratör şişeleri, sodyum asitli (<0.1 bakınız, önlemler) insan serumu (bakınız § Önlemler) içinde 0 ile yaklaşık 400 nmol/L T4 içerir. Tam konsantrasyon, şişe üzerindeki etikette belirtilmiştir. Kalibratörler, IRMM-468 uluslararası standartlarına göre kalibre edilmiştir.

2.1.4 Kontrol serumu: iki şişe (liyofilize)

Şişe, insan serumunda ve sodyum asit (<0.1, bakınız § Önlemler) liyofilize T4 içerir. Beklenen değerler, şişe üzerindeki etiketteki konsantrasyon aralığında belirtilmiştir.

2.2 Total T4 tespiti için kit, 400 tüp (Cat. #3286)**2.2.1 Anti-T4 monoklonal antikor-kaplanmış tüpler: 8 x 50 tüp (kullanıma hazır)****2.2.2 ¹²⁵I-ışaretlenmiş T4 tracer: 55 mL dört şişe (kullanıma hazır)****2.2.3 Kalibratörler: 0.5 mL altı şişe (kullanıma hazır)****2.2.4 Kontrol serumu: iki şişe (liyofilize)****3. GEREKEN ANCAK SAĞLANMAYAN MATERYALLER**

Standard laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- Hassas mikropipet (20 µL).
- Yarı-otomatik pipet (500 µL).
- Vorteks tipi mikser.
- Horizontal veya orbital shaker.
- Aspirasyon sistemi.
- 125 iyot için gamma counter seti.

4. ÖNEMLER**4.1 Genel uyarılar**

- Kalibratör ve kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca kısa süreli açık kalmalıdır.
- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Testi duplike olarak çalışmak önerilmektedir.
- Her tüp sadece bir kez kullanılmalıdır.

4.2 Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir.

Radyasyon güvenliğinin temel kurallarına bağlı kalınması, yeterli korumayı sağlayacaktır.

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Radyoaktif materyallerin pipetlemesi ağızla yapılmamalıdır.
- Eldiven ve laboratuvar kıyafetleri giyerek, radyoaktif materyallerle teması önlenir.
- Radyoaktif malzemelerle ilgili bütün işlemler, kalabalık ortamlar ve koridorlardan uzakta uygun bir ortamda gerçekleştirilmelidir.

- Radyoaktif materyaller, bu malzemeler için ayrılmış bir bölümde ve kapalı bir dolapta saklanmalıdır.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme kayıp vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözümlenmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

4.3 Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya piring ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir.

4.4 İnsan kaynaklı materyal

Bu kit içindeki insan kaynaklı materyaller, HIV 1 ve HIV 2 antikorları, HCV antikorları ve Hepatit B yüzey antijenleri (HbsAg) yönünden negatif bulunmuştur. Ancak, hastalık geçirebilecek materyal gibi işlem uygulanmalıdır. Virüs yokluğunu garanti edecek bir metod bulunmamaktadır. Bu kiti, bütün gerekli önlemleri alarak kullanınız.

Bütün serum ve plazmalara, hepatitler ve AIDS'i geçirebilecek gibi işlem yapılmalıdır. Atıklar, ülkenin kurallarına göre yok edilmelidir.

5. NUMUNE TOPLANMASI VE SAKLANMASI**5.1 Serum ve plazma numunelerinin toplanması**

- Kanı, kuru tüplere veya EDTA içeren tüplere alınız.
- Serum veya plazmayı hücrelerden santrifüjle ayırınız.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, serum ve plazma numuneleri 2-8°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa, tekrar çözüp dondurma işlemini önlemek için bölünüz ve dondurarak (<-20°C, bir ay içinde) saklayınız. Numunelerin buzu oda ısısında çözündürülmelidir.

15 numunenin serum ve EDTA-plazma değerleri (serum numuneleri 71,08 ile 167,32 nmol/L değerleri arasında) IM1447 TT4 RIA Kiti kullanılarak karşılaştırıldı. Sonuçlar aşağıda belirtilmiştir:

$$[\text{plazma}] = 0,6673 [\text{serum}] + 22,12;$$
$$r = 0,9749$$

6. TEST PROSEDÜRÜ**6.1. Kontrol serumlarının hazırlanması**

Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda distile su ile sulandırılmadan önce oda ısısına getirilmelidir. Sulandırdıktan sonra 10 dakika bekleyiniz ve köpüklendirmeden yavaşça karıştırınız. Sulandırılmış solüsyonları 2-8°C'de bir hafta veya <-18°C'de daha uzun süre, kitin son kullanma tarihine kadar saklayabilirsiniz.

6.2 Test prosedürü: (bir sonraki sayfadaki tabloya bakınız)**7. SONUÇLAR**

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki TT4 konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

7.1 Standard eğrisi

Paket içindeki kullanma kılavuzundaki sonuçlar, dikey ekseninde belirlenen radyoaktivite B/T (%) veya B/Bo (%) ve yatay ekseninde kalibratörlerin TT4 konsantrasyonları (nmol/L) yer alacak şekilde bir logit-log (ağırlığı ölçülmüş kubik regresyon) eğri çizgisi kullanılarak hesaplanmıştır. Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

Total aktivite: cpm 44,140				
Calibrators	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/Bo (%)
0	0	34 959	77,2	100
1	26	31 590	71,6	90,4
2	53	26 213	59,4	75,0
3	105	17 048	38,6	48,8
4	210	9 727	22,0	27,8
5	420	5 187	11,8	14,8

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız).

7.2. Numuneler

Her bir numune için, dikey ekseninde B/T (%) veya B/Bo (%) yerini belirleyiniz ve yatay ekseninde ona karşılık gelen TT4 konsantrasyonunu nmol/L olarak okuyunuz.
nmol/L'den ng/dL'ye çevirmek için sonuçları 77,7 ile çarpınız.

8. KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Paketteki bozulma veya alınan verilerde değişiklik olduğu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya aşağıdaki e-mail adresini kullanınız.

imunochem@beckman.com

9. BEKLENEN DEĞERLER

Her laboratuvarın kendi referans değerlerini oluşturmasını öneririz. Total T4'ün serumdaki normal yoğunluğu, tedavi edilmemiş eutroid vakalarında:

	N	Ortalama, (nmol/L)	Medyan, (nmol/L)	Beklenen değerler, (nmol/L)	2.5.- 97.5. Yüzdelik (nmol/L)
Erkekler	50	118,3	114,7	59,65 - 168,2	74,1-160,3
Kadınlar	50	96,42	96,76	59,13-141,4	68,91-122,3
Bütün bireyler	100	107,4	101,9	59,13-168,2	69,32-159,7

10. PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız)

Temsili veriler yalnızca örnek olarak verilmiştir. Her bir laboratuvarında elde edilen performans farklılık gösterebilir.

10.1 Duyarlılık

10.1.1 Analitik duyarlılık: 10,63 nmol/L

10.1.2 Fonksiyonel duyarlılık: 16,71 nmol/L

10.2 Özgüllük

Bu testte kullanılan antikor, T4'e yüksek duyarlılığa sahiptir. Bazı diğer ilgili moleküllere karşı (L-T3, vb.) çok çok düşük bir çapraz reaksiyon görülmüştür.

10.3 Kesinlik

10.3.1 Deney-içi

Serum numuneler, aynı seride 25 kez tekrarlandı. Değişim katsayısı % 3,29 'e eşit veya altında bulundu.

10.3.2 Deney-arası

Serum numuneler 10 farklı seride duplika olarak test edildi. Değişim katsayısı % 7,53 'ya eşit veya altında bulundu.

10.4 Doğruluk

10.4.1 Dilüsyon testi

Yüksek-konsantrasyonlu örnekler sıfır kalibratör ile seri olarak dilüe edildi. Elde edilen düzeltme oranı serum için % 88,1 ve % 112.

10.4.2 Düzeltme testi

Örneklere bilinen miktarlarda TT4 eklendi. Elde edilen düzeltme oranı serum için % 81,0 ve % 107.

10.5 Ölçüm aralığı (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar):

10,63 ile yaklaşık 400 nM.

11. METODUN SINIRLILIKLARI

Bu kullanım kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin olarak etkileyebilir. Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yer aldığı hastanın toplam klinik durumu ışığında değerlendirilmelidir.

Çok hemolizli, sararmış ve lipemik numuneleri kullanmayınız.

Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılığı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immünoterapi gören veya ör.HAMA gibi immünoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya immunoglobulin fragmanlarının kullanıldığı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir.

Bu gibi etkileşim gösteren antikorlar yanlış sonuçlara neden olabilir. Bu tür antikorları taşıdığından şüphelenilen hasta sonuçlarını dikkatli bir şekilde değerlendiriniz.

6.2 TEST PROSÜDÜRÜ

Pipetlemeden önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Aşama 1 Eklemeler *	Aşama 2 İnkübasyon	Aşama 3 Sayım
Antikor kaplanmış tüplere doğru bir şekilde ekleyiniz: - 20 µL kalibratör, kontrol veya numune ve - 500 µL tracer. Karıştırınız.	1 saat 18-25 °C'de Shakerda (>280 rpm) İnkübe ediniz.	Tüplerin içeriğini dikkatlice aspire ediniz (2 «total cpm» tüpü hariç). Bağlı cpm (B) Ve total cpm (T)'yi 1 dakika sayınız.

* Total cpm'yi elde etmek için 2 ek tüpe 500 µL tracer ekleyiniz.

**RADIOIMMUNOLOGICZNA METODA DO OZNACZANIA IN VITRO
CAŁKOWITEJ TYROKSYNY (TT4) W SUROWICY I OSOCZU**

1. ZASADA METODY

Zestaw radioimmunologiczny do oznaczania całkowitej tyroksyny (T4T) jest zestawem kompetycyjnym. Próbkę i kalibratory są inkubowane z T4 znakowanym ¹²⁵J, jako znacznikiem, w probówkach pokrytych przeciwciałem. Po inkubacji płynna zawartość próbek jest odsysana, a związana radioaktywność jest mierzona w liczniku gamma. Zawartość hormonu w danej próbce jest odczytywana z krzywej standardowej.

2. ODCZYNNIKI W ZESTAWIE

Wszystkie odczynniki zestawu są stabilne zgodnie z datą ich ważności umieszczoną na opakowaniu, pod warunkiem przechowywania ich w temperaturze 2-8°C. Daty ważności są wydrukowane tylko na etykietach fiolek z przedłużonym okresem składowania składników przez producenta. Nie należy brać ich pod uwagę. Warunki do przechowywania odczynników po odtworzeniu są podane w paragrafie Procedura oznaczania.

2.1 Zestaw do oznaczania całkowitego T4: 100 próbek (Kat. #1447)
2.1.1 Probówki pokryte przeciwciałem przeciw T4: 2 x 50 próbek (gotowy do użycia)
2.1.2 Znacznik T4 znakowany ¹²⁵J: jedna fiołka 55 mL (gotowy do użycia)
 Fiolka zawiera mniej niż 110 kBq, w dniu produkcji, znakowanego ¹²⁵J T4 w buforze zawierającym białka i azydek sodu (<0.1%; patrz § Środki ostrożności) oraz barwnik.

2.1.3 Kalibratory: sześć fiolek po 0.5 mL (gotowy do użycia)
 Fiolki ze kalibratorami zawierają od 0 do około 400 nmol/L T4 w ludzkiej surowicy z azydkiem sodu (<0.1%; patrz § Środki ostrożności). Właściwe stężenia są podane na etykietach znajdujących się na każdej fiołce. Kalibratory są wykalkulowane przy zastosowaniu standardu IRMM-468.

2.1.4 Surowica kontrolna: dwie fiołki (liofilizowane)
 Fiolki zawierają liofilizowane T4 w ludzkiej surowicy z azydkiem sodu (<0.1%; patrz § Środki ostrożności). Oczekiwany zakres stężeń podano w dodatku.

2.2 Zestaw do oznaczania całkowitego T4, 400 próbek (Kat. #3286)
2.2.1 Probówki pokryte przeciwciałem przeciw T4: 8 x 50 próbek (gotowy do użycia)
2.2.2 Znacznik T4 znakowane ¹²⁵J: 4 fiołki po 55 mL (gotowy do użycia)
2.2.3 Kalibratory: sześć fiolek po 0.5 mL (gotowy do użycia)
2.2.4 Surowica kontrolna: dwie fiołki (liofilizat)
3. MATERIAŁY WYMAGANE ALE NIE DOSTARCZANE

Poza standardowym wyposażeniem laboratorium wymagane są następujące urządzenia:

- Dokładna pipeta (20 µL).
- Półautomatyczna pipeta (500 µL).
- Mieszadło wirowe („vortex“).
- Pozioma lub orbitalna wyrzaskarka.
- System odciągający.
- Licznik gamma do ¹²⁵Jodu.

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI
4.1 Ogólne uwagi

- Fiolki z kalibratorami i kontrolami nie powinny pozostawać otwarte przez czas dłuższy niż jest to konieczne aby uniknąć nadmiernego odparowania zawartości fiołki.
- Nie należy mieszać odczynników z różnych serii produkcyjnych.
- Krzywa standardowa musi być wykonana podczas każdego oznaczania.
- Zalecane jest wykonywanie oznaczeń w duplikatach
- Każda próbówka może być użyta tylko raz.

4.2 Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem

Wejście w posiadanie, używanie, utylizacja i transfer materiałów radioaktywnych powinno być zgodne z prawem obowiązującym w danym kraju. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa przy stosowaniu materiałów radioaktywnych powinno zapewnić odpowiednią ochronę:

- Nie jeść, nie pić, nie palić wyrobów tytoniowych, nie aplikować kosmetyków w obecności materiałów radioaktywnych.
- Nie pipetować radioaktywnych roztworów przy użyciu ust.
- Unikać wszelkiego kontaktu z materiałami radioaktywnymi poprzez stosowanie rękawic i ubrań ochronnych
- Wszystkie czynności przy użyciu materiałów radioaktywnych powinny być wykonywane w przeznaczonym do tego celu miejscu, znajdującym się w odpowiedniej odległości od korytarzy i innych pomieszczeń.
- Materiały radioaktywne powinny być przechowywane w zabezpieczonym pojemniku.
- Należy zapisać datę przyjęcia radioaktywnych produktów, a czas ich przechowywania powinien być zgodny z odpowiednim terminem.
- Sprzęt laboratoryjny i naczynia, które uległy kontaminacji powinny być oddzielone od pozostałych, aby nie spowodować kontaminacji krzyżowej różnymi radioizotopami
- W sytuacji zanieczyszczenia radioizotopami i/lub zgubieniu radioaktywnego materiału powinno być podjęte postępowanie zgodne z prawem obowiązującym w kraju użytkownika.
- Radioaktywne odpady powinny być przechowywane zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika

4.3 Azydek sodu

Niektóre odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Azydek sodu wchodzi w reakcje z ołowiem, miedzią lub mosiądzem, tworząc związki. Wybuchowe. W związku z tym odczynniki zawierające azydek sodu powinny być rozcieńczane dużą ilością wody przed wylaniem ich do kanalizacji

4.4 Materiały pochodzące od człowieka

Materiały pochodzące od człowieka użyte w tym zestawie mają wynik negatywny po badaniach na obecność przeciwciał HIV1 i HIV2, przeciwciał przeciw HCV, powierzchniowego antygenu Hepatitis B (HbsAg). Mimo to powinny być traktowane jak materiał zakaźny. Nie ma testu dającego pełną gwarancję nieobecności wirusa. Należy obchodzić się z tym zestawem z zachowaniem wszelkich środków ostrożności.

Wszystkie surowice i osocza należy tak traktować jakby były materiałem do zakażenia hepatitis lub AIDS, a niszczenie odpadów powinno być przeprowadzone zgodnie z przepisami obowiązującymi w danym kraju.

5. ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE I PRZECHOWYWANIE

- Pobierać krew do pustych i suchych próbek lub zawierających EDTA, jeżeli to możliwe od osób będących na czczo.
- Oddzielić surowicę lub osocze od komórek poprzez wirowanie.
- Próbkę surowicy i osocza powinny być przechowywane w 2-8°C, jeżeli oznaczanie zostanie przeprowadzone w ciągu 24 godzin. Jeżeli oznaczanie będzie przeprowadzone później (w ciągu 1 miesiąca), to należy odpowiednio rozdozować próbki zamrozić (<-20 °C), aby nie powtarzać rozmrażania i zamrażania tej samej próbki. Rozmrażanie próbek musi być przeprowadzane w temperaturze pokojowej.

Wartości surowicy i osocza z EDTA dla 15 prób (zakres wartości dla próbek surowicy 71.08 - 167.32 nmol/L) zostały porównane przy użyciu zestawu IM1447 TT4 RIA.

Uzyskane wyniki:

$$[\text{osocze}] = 0.6673 [\text{surowica}] + 22.12;$$

$$r = 0.9749$$

6. PROCEDURA OZNACZANIA
6.1 Przygotowanie surowic kontrolnych

Surowica kontrolna musi być doprowadzona do temperatury pokojowej przed dodaniem do niej odpowiedniej ilości wody destylowanej, której objętość jest podana na etykietach fiołki. Następnie należy odczekać 10 minut i delikatnie zamieszać, aby uniknąć spienienia przed dozowaniem. Można przechowywać roztwór surowicy kontrolnej w 2-8°C jeden tydzień lub rozdozowane w <- 18°C przez dłuższy czas, zgodnie z datą ważności zestawu.

6.2 PROCEDURA OZNACZANIA (patrz tabela)
7. WYNIKI

Wyniki należy odczytać z krzywej standardowej. Krzywa standardowa służy do oznaczania stężenia całkowitego T4 (TT4) w próbkach mierzonych w tym samym czasie co kalibratory.

7.1 Krzywa standardowa

Zestawienie wyników jest przygotowane w oparciu o krzywą półlogarytmiczną przystosowaną (regresja ważona cubic) z B/T(%) lub B/B₀(%) na osi pionowej i stężenie TT4 w kalibratorach na osi poziomej (nmol/L). Zastosowanie innych metod do opracowania danych może dać nieco różne rezultaty.

Całkowita aktywność: 44,140 cpm				
Kalibratory	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34,959	77.2	100
1	26	31,590	71.6	90.4
2	53	26,213	59.4	75.0
3	105	17,048	38.8	48.8
4	210	9,727	22.0	27.8
5	420	5,187	11.8	14.8

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

7.2 Próbk

Dla każdej próby odnajdź B/T lub B/B₀ na osi pionowej i odczytaj odpowiadające tej wartości stężenie całkowitego T4, znajdujące się na osi poziomej. Aby przeliczyć nmol/L na ng/dL pomnóż wynik przez **77.7**.

8. KONTROLA JAKOŚCI

Dobrze funkcjonujące laboratorium dla swej wiarygodności stosuje regularnie wewnętrzną kontrolę jakości otrzymanych wyników. Te próbki muszą być przygotowywane i oznaczane zgodnie z procedurą. Ich przydatność do oceny każdego zestawu będzie właściwa przy zastosowaniu odpowiedniej analizy statystycznej. W przypadku uszkodzenia paczki lub jeżeli opracowanie otrzymanych wyników sprawia trudność, proszę się kontaktować z miejscowym dystrybutorem lub pod adresem: E-mail: imunochem@beckman.com

9 OCZEKIWANE WARTOŚCI

Doradzamy w każdym laboratorium ustalić własną wartość normalną. Zakres wartości stężeń całkowitego T4 zgodnych z normą wynosi w surowicy u nie leczonych z eutyreozą :

	N	Średnia, (nmol/L)	Mediana, (nmol/L)	Zakres, (nmol/L)	2.5-Sze - 97.5-Sze percentyl (nmol/L)
Mężczyźni	50	118.3	114.7	59.65 - 168.2	74.1-160.3
Kobiety	50	96.42	96.76	59.13-141.4	68.91-122.3
Ogół	100	107.4	101.9	59.13-168.2	69.32-159.7

10. PRZEDSTAWIENIE CHRAKTERYSTYK

(Po więcej wiadomości zajrzyj do zestawu danych w "DODATKU")

Reprezentatywne dane są przedstawiane tylko do celów ilustracyjnych. Uzyskiwane parametry mogą się różnić w zależności od laboratoriów.

10.1 Czulość

10.1.1 Analityczna czulość: 10.63 nmol/L

10.1.2 Funkcjonalna czulość: 16.71 nmol/L

10.2 Specyficzność

Przeciwciała użyte w zestawie mają wysoką specyficzność do T4. Te przeciwciała wykazują niezwykle niską reaktywność krzyżową w stosunku do wielu pokrewnych związków (n.p.L-T3)

10.3 Kontrola precyzji

10.3.1 Wewnątrz zestawu

Próbki surowicę z tej samej serii były oznaczane 25 razy. Współczynniki wariancji były poniżej lub równały się wartości do 3.29 %.

10.3.2 Między zestawami

Próbki surowicę były oznaczane w duplikatach w 10 różnych seriach. Współczynniki wariancji były poniżej lub równały się wartości do 7.53 %.

10.4 Kontrola dokładności

10.4.1 Test rozcieńczania

Próbki o wysokim stężeniu były seryjnie rozcieńczane kalibratorem zero. Procent odzysku otrzymano między 88.1% a 112% dla surowicę.

10.4.2 Test odzysku

Próbki o niskim stężeniu były mieszane ze znaną ilością mikroglobuliny. Procent odzysku otrzymano między 81.0% a 107% dla surowicę.

10.5 Zakres pomiarowy (od czulości analitycznej testu do stężenia najwyższego kalibratora): 10.63 do około 400 nmol/L.

11. OGRANICZENIA METODY

Niestosowanie się do instrukcji załączonej do zestawu może znacznie wpływać na wyniki

Wyniki powinny być interpretowane w oparciu o całość stanu klinicznego pacjenta, włącznie z historią choroby, danymi z dodatkowych testów i innymi informacjami.

Nie używać zhemolizowanych, żółtaczkowych i lipemicznych próbek.

W przypadku oznaczeń z wykorzystaniem przeciwciał istnieje możliwość zakłóceń spowodowanych przez obce przeciwciała w próbce pacjenta. Pacjenci, którzy byli regularnie wystawieni na kontakt ze zwierzętami lub byli poddawani immunoterapii lub zabiegom diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub fragmentów immunoglobulin, mogą wytworzyć przeciwciała (np. HAMA) zakłócające wyniki oznaczeń immunologicznych.

Takie przeciwciała zakłócające mogą prowadzić do uzyskania błędnych wyników. Należy starannie przeanalizować wyniki u pacjentów z podejrzeniem obecności tych przeciwciał.

6.2 . PROCEDURA OZNACZANIA

Wszystkie odczynnik przed pipetowaniem należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Etap 1 Dodawanie *	Etap 2 Inkubacja	Etap 3 Zliczanie
Do pokrytych probówek dodać kolejno: - 20 µL kalibratory, kontrole lub próbki i - 500 µL znacznika. Zmieszać.	Inkubacja 1 godzinę W 18-25 °C Z wytrząsaniem (> 280 rpm).	Odciągnąć starannie zawartość probówek (z wyjątkiem 2 probówek «całkowite cpm»).
		Zliczać aktywność (cpm) przez 1 min.

*Dodać 500 µL znacznika do 2 dodatkowych probówek, aby otrzymać całkowite cpm.

**RADIOIMUNOENSAIO PARA A DETERMINAÇÃO *IN VITRO* DA TIROXINA TOTAL (TT4)
EM SORO E PLASMA HUMANOS****1. PRINCÍPIO DO ENSAIO**

O radioimunoensaio para o doseamento da tiroxina total (T4) é um ensaio competitivo. As amostras e os calibradores são incubados com T4 marcada com ¹²⁵I, em tubos revestidos com anticorpo. Após a incubação, o conteúdo dos tubos é aspirado e a radioactividade é determinada num contador gama. Uma curva padrão é calculada e os valores desconhecidos são calculados por interpolação.

2. REAGENTES FORNECIDOS

Todos os reagentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do kit, quando armazenado a 2-8 °C. As datas de validade impressas nos rótulos dos frascos são apenas para aplicar no armazenamento a longo prazo dos componentes pelo fabricante, antes da montagem do kit. Não levar em consideração. As condições de armazenamento dos reagentes, após a reconstituição são indicadas no parágrafo Procedimento de Ensaio.

2.1 Kit para a determinação da T4 total, 100 tubos (Cat. #1447)**2.1.1 Tubos revestidos com anticorpo monoclonal anti-T4: 2 x 50 tubos (pronto a usar)****2.1.2 Marcador ¹²⁵I- T4: um frasco de 55 mL (pronto a usar)**

O frasco contém, à data de fabrico, 110 kBq de T4 marcada com [¹²⁵I] em tampão com proteínas, azida de sódio (<0.1 %, veja Cuidados e Precauções) e um corante.

2.1.3 Calibradores: seis frascos de 0.5 mL (pronto a usar)

Os calibradores contêm de 0 a, aproximadamente 400 nmol/L de T4 em soro humano e azida de sódio (<0.1 %; ver Cuidados e Precauções). A concentração exacta está indicada no rótulo do frasco. Os calibradores foram calibrados usando o padrão IRMM-468.

2.1.4 Controlos: dois frascos (liofilizados)

Os frascos contêm T4 liofilizada em soro humano e azida de sódio (<0.1 %; ver § Precauções). Os valores esperados deverão estar na gama de concentração indicada no suplemento.

2.2 Kit para a determinação da T4 total, 400 tubos (Cat. #3286)**2.2.1 Tubos revestidos com anticorpo monoclonal anti-T4: 8 x 50 tubos (pronto a usar)****2.2.2 Marcador ¹²⁵I- T4: quatro frascos de 55 mL (pronto a usar)****2.2.3 Calibradores: seis frascos de 0.5 mL (pronto a usar)****2.2.4 Controlos: dois frascos (líoilizados)****3. MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO**

Em adição ao material usual do laboratório, é ainda necessário:

- Micropipetas de precisão (20 µL).
- Pipetas semi-automáticas (500 µL).
- Vórtex.
- Agitador orbital ou horizontal
- Sistema de aspiração.
- Contador Gama ajustado para iodo 125.

4. CUIDADOS E PRECAUÇÕES**4.1 Orientações gerais:**

- Os frascos dos calibradores e controlos devem estar abertos durante o menor tempo possível, de forma a evitar evaporação excessiva.
- Não misture reagentes de kits de lotes diferentes.
- Deve ser feita uma curva padrão a cada ensaio.
- É recomendado que o ensaio seja feito em duplicado.
- Cada tubo só deve ser usado uma vez.

4.2 Regras básicas de segurança para radiação

A aquisição, posse, utilização e transferência de material radioactivo está sujeita às regulamentações de cada país.

A adesão às regras básicas de segurança para radiação fornece a protecção adequada:

- Não comer, beber, fumar ou aplicar cosméticos na área onde os materiais radioactivos estiverem a ser manipulados.
- Não pipetar com a boca.
- Evite o contacto com materiais radioactivos utilizando luvas e bata.
- Toda a manipulação de substâncias radioactivas deve ser feita em local apropriado, longe de corredores e outras áreas de trabalho.
- O registo da recepção e armazenamento de todos os produtos radioactivos deve ser mantido actualizado.
- Equipamentos de laboratório e vidraria que estão sujeitos a contaminação devem ser separados a fim de prevenir contaminação cruzada de diferentes radioisótopos..
- Cada caso de contaminação radioactivo ou perda de material radioactivo deve ser resolvido de acordo com procedimentos estabelecidos.
- O lixo radioactivo deve ser manuseado de acordo com as regras estabelecidas por cada país.

4.3 Azida de Sódio

Alguns dos reagentes contêm azida de sódio como conservante. A azida de sódio reage com o chumbo e o cobre das canalizações e forma ázidas metálicas altamente explosivas. Ao descartar os líquidos, deixe correr grande quantidade de água a fim de prevenir a formação destas azidas.

4.4 Material de Origem Humana

Os materiais de origem humana, contidos neste kit, foram considerados negativos para a presença de anticorpos para HIV 1 e HIV 2, anticorpos anti-HCV, bem como para o antígeno de superfície da Hepatite B (HBsAg). No entanto, manuseie estes produtos como potencialmente infectantes. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer total garantia de que nenhum vírus está presente. Deve lidar com este kit com todas as precauções necessárias. Todas as amostras de soro devem ser manuseadas como capazes de transmitir hepatite ou HIV, e os resíduos devem ser descartados de acordo com as regras estabelecidas por cada país.

5. COLHEITA DE AMOSTRA, PROCESSAMENTO, ARMAZENAMENTO E DILUIÇÃO

- Colher a amostra de sangue em tubo seco ou tubos contendo EDTA.
- Separar o soro ou plasma por centrifugação.
- As amostras podem ser armazenadas de 2-8°C, se o ensaio for realizado dentro de 24 horas. Para longos períodos de armazenamento devem ser congeladas a <-20°C (máximo de 1 mes), em alíquotas para evitar descongelamentos repetidos. Descongelação da amostra deve ser realizada à temperatura ambiente.

Valores de soro e EDTA-plasma para 15 amostras (amostras de soro na faixa de 71.08 a 167.32 nmol/L) foram comparadas usando o kit 1447 TT4 RIA. Os resultados são os seguinte:

$$[\text{EDTA-plasma}] = 0.6673 [\text{soro}] + 22.12;$$
$$r = 0.9749$$

6. PROCEDIMENTO DO ENSAIO**6.1 Reconstituição do controlo**

Os reagentes devem atingir a temperatura ambientes antes da reconstituição. O controlo deve ser reconstituído com o volume de água destilada indicado no rótulo. Esperar pelo menos 10 min e misturar gentilmente para evitar espuma. Armazenar a solução reconstituída entre 2 e 8 °C, durante uma semana, ou congelada a <-18°C, em alíquotas, até à data de expiração do kit.

6.2 Procedimento do ensaio (ver tabela na página seguinte)**7. RESULTADOS**

Os resultados são obtidos a partir da curva padrão por interpolação. A curva é utilizada para a determinação das concentrações de TT4 em amostras doseadas ao mesmo tempo que os calibradores.

7.1 Curva padrão

Os resultados abaixo foram calculados utilizando-se um ajuste de curva logit-log-(regressão cúbica ponderada) com B/T (%) ou B/B₀ (%) no eixo vertical e as concentrações de TT4 dos calibradores no eixo horizontal (nmol/L). Outros métodos de análise de dados podem apresentar resultados ligeiramente diferentes.

Actividade Total : 44,140 cpm				
Calibradores	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34,959	77.2	100
1	26	31,590	71.6	90.4
2	53	26,213	59.4	75.0
3	105	17,048	38.6	48.8
4	210	9,727	22.0	27.8
5	420	5,187	11.8	14.8

(Exemplo de curva de calibração, não utilizar para cálculos)

7.2 Amostras

Para cada amostra e controlo, localize o valor de B/T (%) ou B/B₀ (%) no eixo vertical da curva padrão e leia a concentração correspondente de TT4 em nmol/L no eixo horizontal.

Para converter concentrações em nmol/L para ng/dL, multiplicar os resultados por 77.7.

8. CONTROLO DE QUALIDADE

As boas práticas de laboratório implicam a execução regular do controlo para garantir a qualidade dos resultados obtidos. Estes controlos devem ser processados exactamente como as amostras do ensaio, e é recomendado que os seus resultados sejam analisados utilizando um método estatístico adequado.

Em caso de deterioração da embalagem ou alteração do resultado esperado obtido, por favor contacte o distribuidor local ou utilize o seguinte endereço de email:

imunochem@beckman.com

9. VALORES ESPERADOS

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores normais. A gama de concentração normal de T4 total em plasma e soro de indivíduos normais não tratados foi encontrado

	N	Média (nmol/L)	Mediana (nmol/L)	Min.-Máx. (nmol/L)	2.5 - 97.5 percentil (nmol/L)
Mulheres	50	118.3	114.7	59.65 - 168.2	74.1-160.3
Homens	50	96.42	96.76	59.13-141.4	68.91-122.3
Todos os indivíduos	100	107.4	101.9	59.13-168.2	69.32-159.7

10. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

(Para mais detalhes, ver "APPENDIX")

São fornecidos dados representativos apenas para fins ilustrativos. O desempenho pode variar de um laboratório para outro.

10.1 Sensibilidade

10.1.1 Sensibilidade Analítica: 10.63 nmol/L

10.1.2 Sensibilidade Funcional: 16.71 nmol/L

10.2 Especificidade

O anticorpo usado neste ensaio é altamente específico para a T3. Foram obtidas reactividades cruzadas muito baixas para algumas moléculas relacionadas (por exemplo L-T3).

10.3 Precisão

10.3.1 Intra-ensaio

Foram analisadas 10 réplicas de amostra de soro num mesmo ensaio. Os coeficientes de variação foram ≤ a 3.29 %.

10.3.2 Inter-ensaio

As amostras de soro foram efectuadas em 10 ensaios diferentes. Os coeficientes de variação foram ≤ a 7.53 %.

10.4 Exactidão

10.4.1 Teste de diluição

Amostras de soro altamente concentradas foram diluídas seriadamente com o calibrador zero. A percentagem de recuperação obtida variou entre 88.1 % a 112 %.

10.4.2 Teste de recuperação

A amostras de soro com baixas concentrações de T4 foram adicionadas quantidades conhecidas. A percentagem de recuperação obtida variou entre 81.0 % a 107 %.

10.5 Gama de valores (da sensibilidade analítica ao calibrador mais alto):

10.63 a, aproximadamente 400 nM.

11. LIMITAÇÃO DO MÉTODO

O não cumprimento das instruções deste protocolo pode afectar, significativamente, os resultados.

Os resultados devem ser interpretados em conjunto com a clínica do doente, incluindo a história clínica, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Não use amostras intensamente lipêmicas, ictericas ou hemolizadas.

Nos ensaios que utilizam anticorpos, há possibilidade de interferência por anticorpos heterófilos nas amostras dos doentes. Os doentes expostos regularmente a animais, que receberam imunoterapia ou procedimentos de diagnóstico com imunoglobulinas ou fragmentos de imunoglobulinas, podem produzir anticorpos, ex: HAMA, que interferem com os imunoenaios.

Tais anticorpos interferentes podem causar resultados erróneos. Os resultados obtidos para estes doentes devem ser avaliados com cuidado.

6.2 PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Deixe todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes da pipetagem.

Passo 1 Pipetagens*	Passo 2 Incubação	Passo 3 Contagens
Aos tubos revestidos adicione sucessivamente: - 20 µL de calibrador, controlo ou amostra e - 500 µL do marcador Agitar.	Incubar durante 1 hora a 18-25°C com agitação (>280 rpm).	Aspirar o conteúdo dos tubos com cuidado (excepto os 2 tubos "total cpm") Proceder à contagem de todos os tubos, durante 1 minuto.

*Adicione 500 µL do marcador a 2 tubos adicionais para obter "cpm total".



效能：總甲狀腺素在人血清和血漿內的放射免疫測定



1. 分析原理

總甲狀腺素(T4)是一種競爭分析用放射免疫測定。樣品和定標器被適用培養於¹²⁵I標記的抗T4單株抗體作為追蹤劑。培養完成後，將試管內液體抽掉，¹²⁵I標記抗體。以伽瑪計數器計算出結合放射性強度。標準曲線構成和未知數據由曲線插值法而獲得。

2. 所附試劑

若將分析組的所有試劑儲存於2-8°C的溫度下，則所有分析組之試劑在其標籤指明的有效期限內都可維持穩定。在配件小瓶標籤打印有效期限，僅適用於在組成套之前製造商長期儲備。一般不適用。

重製或稀釋後之試劑的儲存條件將於分析步驟的章節中加以說明。

2.1 Total T4濃度分析組，100管(目錄編號 # 1447)

2.1.1 抗T4抗體附著的試管：2×50管(現成可用)

2.1.2 ¹²⁵I標記的T4追蹤劑；一瓶55mL (現成可用)，

含有製造日期當時強度為110 kBq的¹²⁵I- T4免疫球蛋白，、疊氮化鈉(<0.1%，請參閱注意事項)、以及染料的緩衝液中。

2.1.3 校正液：6瓶，每瓶0.5 mL (現成可用)

校正液瓶中含有 0 至大約400 nmol/L T4在人類血清及疊氮化鈉(<0.1%，請參閱注意事項)的緩衝液中。確實濃度標示於各瓶標籤上。這些校正液已經利用國際標準品IRMM-468。

2.1.4 對照血清：2瓶(冷凍乾燥品)

此瓶含有溶於人血清的T4冷凍乾燥物及疊氮化鈉(<0.1% 請參閱注意事項)，預期數值介於附錄中所註明的濃度範圍內。

2.2 Total T4濃度分析組，400管(目錄編號 # 3286)

2.2.1 抗T4抗體附著的試管：8×50管(現成可用)

2.2.2 ¹²⁵I標記T4追蹤劑；4瓶，每瓶55 mL(現成可用)，

2.2.3 校正液：6瓶，每瓶0.5 mL，(現成可用)

2.2.4 對照血清：2瓶(冷凍乾燥品)

3. 需要但未附的物品

除了一般實驗室設備以外，尚需要下列各物品

- 精確的微量吸管(20 µL)
- 半自動分注吸管(500 µL)
- 震盪型混合器
- 水平式或旋轉式搖動器
- 抽吸系統
- 適用¹²⁵I的伽瑪計數器

4. 注意事項

4.1 一般注意事項：

- 每瓶的校正液和對照液應儘快打開以免過度揮發。
- 請勿混合不同批號之分析組試劑。
- 搖動器的正確設定對於分析的再現性非常重要。
- 建議進行分析兩次。
- 各管均僅限單次使用。

4.2 放射線安全的基本原則

放線性物質的購買、擁有、利用及運送均受到使用者當地國家的法規所規範。

遵循放射線安全的基本原則理應可以提供適當的保護

- 在放射性物質的使用區域中，不可吃東西、喝飲料、抽煙或使用化妝品

- 不可以用嘴來分注具有放射性的溶液
- 利用手套及實驗室防護衣來避免接觸所有放射性物質
- 所有放射性物質的處置均應在距離走廊及其他較多人走動之區域較遠的適當處進行
- 放射性物質應儲存於指定區域的容器中
- 所有接受及儲存放射性產品的記錄應隨時更新

有可能受到污染的實驗室設備及玻璃器皿應加以分開，避免造成不同放射線同位素間的互相污染

- 放射性污染或放射性物質遺失的案例，均應按照指定步驟來處理
- 放射性廢棄物的處置應遵照使用當地國家的規定來進行

4.3 疊氮化鈉

有些試劑中含有疊氮化鈉作為防腐劑，疊氮化鈉可能與鉛、銅或黃銅反應形成具有爆炸性的疊氮金屬物，因此在棄置時應以大量清水沖洗水管線系統。

4.4 材料來源是人類

雖然此分析組中源自於人類的產品均經過測試，證明沒有HIV 1及HIV2抗體、HCV抗體、以及B型肝炎表面抗原(HBsAg)的存在，仍應視為具有傳染疾病能力的檢體來進行處理。目前沒有方法可以完全確定檢體中沒有病毒存在，因此檢體的處理應遵循所有必要的注意事項。所有血清及血漿檢體均應視為具有傳染肝炎或AIDS能力來處置，廢棄物的棄置應遵循當地法規。

5. 檢體收集、處理以及儲存

- 將血液收集在乾試管或含有肝磷脂或EDTA的試管中。
- 利用離心將血清或血漿與細胞分開。
- 若預計在24小時內進行分析，請將血清及血漿檢體儲存於2-8°C 的溫度下。若需較長期儲存，請分裝後冷凍儲存(低於-20°C,最長1個月內)，避免重複的冷凍及解凍。檢體必需在室溫下解凍。

15個樣品的血清和EDTA血漿值(血清抽樣範圍從71.08到167.32 nmol/L)使用IM1447 TT4 RIA成套試劑 結果如下：

$$[\text{血漿}] = 0.6673 [\text{血清}] + 22.12;$$

$$r = 0.9749$$

6. 分析步驟

6.1 控制檢體的重製

依據標籤上註明房間溫度的蒸餾水量來重製瓶中的內容物，重製後靜置10分鐘，然後輕輕的混合，以避免在分注前產生氣泡。在分析組的有效期限內將重製溶液儲存在低於-18°C的溫度下。

6.2 分析步驟：(請參閱下頁表格)

7. 結果

在標準曲線上進行內插法來獲得結果，標準曲線適用於與校正液同時進行檢測之檢體內的TT4濃度分析。

7.1 標準曲線

包裝內頁上的計算結果是利用以校正液的測得放射線強度B/T(%)或B/B₀(%)為縱軸、TT4濃度(nmol/L)為橫軸的對數-半對數曲線(衡量立方體)計算而得。利用其他資料縮減的統計方法所得到的結果可能會稍微不同。

總強度：44,140 cpm				
校正液	TT4 (nmol/L)	cpm (3次)	B/T%	B/B ₀ (%)
0	0	34959	77.2	100
1	26	31590	71.6	90.4
2	53	26213	59.4	75.0
3	105	17048	38.6	48.8
4	210	9727	22.0	27.8
5	420	5187	11.8	14.8

(標準曲線範例，請勿用此進行計算)

7.2 檢體

在縱軸上定出各檢體數值B/T (%)或B/B₀ (%), 然後在橫軸上對出T4濃度樣本為nmol/L。轉換nmol/L至ng/dL,計算結果為77.7

8. 品質控制

優良實驗室規範表示定期利用對照檢體來確認所得結果的品質，且必須利用與分析檢體完全相同的方式來進行這些檢體的分析，並且建議利用適當的統計方法來分析所得結果。

若發生包裝物損壞變質或所得數據顯示有性能改變的情形時，請與您當地的經銷商聯繫，或利用下列電子郵件地址與我們聯繫：

imunochem@beckman.com

9.預期數值

我們建議各實驗室應利用有臨床特徵的血清來建立自有參考數值，TT4在血漿和血清未經治療甲狀腺正常個體上的一般濃度範圍測量發現為。

	數	平均值, (nmol/L)	Median, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2.5 th - 97.5 th percentile (nmol/L))
男	50	118.3	114.7	59.65 - 168.2	74.1-160.3
女	50	96.42	96.76	59.13-141.4	68.91-122.3
所有人	100	107.4	101.9	59.13-168.2	69.32-159.7

10. 性能特色

(有關更多細節，請參閱資料表中的「附錄」)

提供代表的資料只為了說明用。每個實驗室所得到的結果都不同。

10.1 分析靈敏度：10.63 nmol/L

10.1.1功能靈敏度：16.71 nmol/L

10.2 特异性

免疫分析組中所用的抗體對T4有高度專一性，極低的穿越反應所以不會與其他相關分子發生交叉反應(L-T3)。

10.3 精確度

10.3.1各次分析內

在同一次分析內，將檢體分析25次，所得的變異係數不高於3.29 %血清。

10.3.2各次分析間

在10次不同分析內，以一式二份方式來分析檢體，所得的變異係數不高於7.53 %血清樣本。

10.4 準確度

10.4.1稀釋試驗

高濃度樣品連續用零校正液稀釋。回復比率在在血清為88.1 % 和112 %之間。

10.4.2 回收試驗

樣品摻入已知量的TT4。回復比率在在血清為81.0 % 和 107% 之間。

10.5 測量範圍 (從分析到高靈敏度校準): 10.63 至大約400 nM。

11. 分析限制

不好的儀器，可能對結果產生明顯的影響。

非指示在這說明書裡可以極大影響結果。應被解釋根據患者的介紹，包括臨床歷史，資料從另外的測試和其它適當的資訊。

不要使用嚴重溶血或脂血標本。

為使用抗體的分析用試樣，可能為由heterophile抗體的干涉存在病人樣品中。通常病人被暴露在動物或接受了免疫療法或運用免疫球蛋白或免疫球蛋白片段的診斷過程也許生產抗體，即HAMA，干擾免疫測定法。這樣干涉的抗體也許導致錯誤結果。如被懷疑有這些抗體小心地評估患者的結果。

6.2分析步驟

所有試劑在分注前需回到室溫

步驟一 加入*	步驟二 培養	步驟三 計數
在附著試管中， 陸續加入： - 20 µL的校正液、對照物 或檢體，以及 - 500 µL的追蹤劑， 然後混合	在18-25°C下培養1小時， 同時搖動混合(以大於 280 rpm的速度)	小心抽掉管內溶液(除了 2管外 < 總cpm >)， 計算1分鐘內的結合 cpm(B)及總cpm(T)

*在另外2管中加入500 µL追蹤劑來獲得總cpm



사람 혈청과 혈장 안의 토탈 티록신(T4)의 시험관 내 측정을 위한 방사선 면역 측정법



1. 측정 원리

총 T4의 방사선측정은 경합적인 면역분석 측정법이다. 미지의 검체와 standard는 단세포군 항-T4 항체 피복 시험관 내의 ^{125}I -thyroxine과 함께 incubation된다. Incubation 후 시험관의 내용물은 흡입되고 결합형의 방사능이 gamma counter에서 측정되어진다. TT4의 농도는 측정된 방사능에 반비례한다. 미지 검체의 측정값은 내삽 곡선을 통해 읽을 수 있다.

2. 제공되는 시약

본 kit 내의 모든 시약은 2-8°C에서 보관할 때, kit 표지에 지시된 유효기간까지 안정하다. 구성 바이알에 표기된 온도와 유효기간은 제조사를 위한 표기이니, 참고하지 마십시오.

용액을 재구성하거나 희석한 후의 저장 조건은 측정 과정에 설명되어져 있다.

2.1. Total T4 측정을 위한 KIT, 100 tests Cat.#1447

2.1.1 항-T4 단세포군 항체로 피복된 시험관: 2 × 50 tubes (즉시사용가능)

2.1.2 ^{125}I -표지 T4 tracer 항체: 55mL vial 1개 (즉시사용가능)

Vial은 단백질, 아지드화 나트륨(<0.1%, §주의사항을 보시오)과 염색제를 포함한 완충액 내에 ^{125}I -표지 T4 110 kBq 이하(생산일예)를 담고 있다.

2.1.3 표준용액: 0.5mL vials 6개 (즉시 사용가능)

Vial은 아지드화 나트륨(<0.1%, §주의사항을 보시오)과 함께 0에서 대략400nmol/L의 사람혈청 내 T4를 포함하고 있다. 정확한 농도는 각각의 vial에 표기되어 있다. 표준액은 IRM-468 국제기준을 따라 표준화되었다.

2.1.4 정도관리 용액: 2 vials (동결건조 상태)

각 vial은 동결 건조된 T4 사람혈청을 포함한다. 아지드화 나트륨(<0.1% §주의사항을 보라). 기댓값은 보충자료에 표시된 농도 범위 안에 있다.

2.2 T4 측정을 위한 KIT, 400 tests Cat.#3286

2.2.1 항-T4 단세포군 항체로 피복된 시험관: 8 × 50 tubes (즉시사용가능)

2.2.2 ^{125}I -표지 T4 tracer 항체: 55mL vial 4개 (즉시사용가능)

2.2.3 표준용액: 0.5mL vials 6개 (즉시 사용가능)

2.2.4 정도관리 용액: 2 vials (동결건조 상태)

3. 필요한 장비와 도구

표준적인 실험실 장비에 부가하여 아래의 항목들이 요구된다:

- 정밀 micropipet (20 µL)
- 반 자동 pipet (500 µL)
- Vortex형 믹서
- 수평 케도형 shaker
- 흡입용 system
- ^{125}I 를 위한 gamma counter

4. 주의사항

4.1 일반적인 주의

- 표준액과 정도관리용액은 증발을 막기 위해 가능한 짧게 개봉해야 한다.
- 상이한 lot의 kit들을 서로 섞지 않는다.
- 각 측정마다 새로운 표준 곡선이 필요하다.
- 2번의 반복 측정이 권장된다.
- 각 튜브는 반드시 한번씩만 사용해야 한다.

4.2 방사선 안전에 대한 기본 규칙

- 방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 기본 규칙에 대한 영수는 충분한 방호를 제공한다.
- 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.
- 방사성 용액을 입으로 pipetting 하지 않도록 한다.
- 장갑과 실험복을 착용하여 방사성 물질에 대한 모든 접촉을 피하여라.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.

- 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.
- 오염이 되기 쉬운 실험실 장비와 유리제품은 다른 종류의 방사성 동위원소와의 교차오염의 예방을 위해 분리 보관되어야 한다.
- 모든 경우의 방사성 오염이나 방사성 물질의 분실은 규정된 절차에 의해 해결되어야만 한다.
- 방사성 폐기물은 사용되는 국가에서 규정한 규제에 따라 처리되어야만 한다.

4.3 아지드화 나트륨

어떤 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 납, 구리, 황동과 폭발성 요소화 금속의 형태를 띠는 반응을 일으킬 수 있다. 시약은 많은 양의 물로 씻어내어 배관계통을 통해 처분하라.

4.4. 사람 기원 물질

본 kit의 어떤 시약들은 사람으로부터 기인한 것이고 HIV 1, HIV 2와 B형, C형 간염에 대해 음성으로 나타났다. 하지만 전염성을 가진 것처럼 취급하여라. 어떠한 시험방법도 전염성 물질이 없다고 완전히 확신시킬 수는 없다. 이러한 시약들은 잠재적으로 감염성을 가진 것처럼 취급하라.

모든 혈액 검체는 질병을 전염시키는 것으로(예를 들면 간염이나 AIDS) 취급하라.

5. 검체의 수집, 처리 과보관

- 건조한 시험관 또는 EDTA를 포함한 시험관에 혈액을 수집한다.
- 원심분리하여 혈청과 혈장을 분리한다.
- 혈청 검체는 측정이 24시간 이내에 이루어진다면 2-8°C에서 보관할 수 있다. 더 오랜 기간의 보관을 위해서는 정제 후 -20°C, 1개월에, 이하에서 보관하여 반복적인 냉동과 해동을 피한다. 검체는 실온에서 해동시킨다.

15개의 검체(71.08~167.32 nmol/L)의 혈청과 EDTA 혈장 값은 IM1447 Total T4 RIA Kit로 비교되었다. 결과값은 다음과 같다:

$$[\text{혈장}] = 0.6673[\text{혈청}] + 22.12;$$

$$r = 0.9749$$

6. 검사 절차

6.1 정도관리용액의 재구성

vial의 내용물 vial label에 표기된 증류수로 재구성 하기 전에 실온에 이르게 한다. 분배하기 전, 가품생성 방지를 위해 10분간 방치 후 조심스럽게 섞어준다. 재구성한 용액은 2-8°C에서 1주일간 저장하고 -18°C 이하에서 유효기간까지 냉동상태로 저장한다.

6.2 측정 순서 (다음 페이지 참조)

7. 결과값의 계산

결과값은 검체와 함께 측정하여 작성된 표준곡선으로부터의 내삽으로 얻어진다. 곡선은 표준액과 동시에 측정된 검체 내 TT4 농도를 결정짓는다.

7.1. 표준곡선

결과값은 수직축 상에 B/T(%) 또는 B/B₀(%)값이고, 수평축상에 검체의 TT4 농도(nmol/L)인 logit-log 곡선에 의해 계산되어진 값이다. 다른 데이터의 공제 방법은 다른 결과값을 보여줄 수 있다.

총 방사능량: cpm 44,140				
표준용액	TT4 (nmol/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	34,959	77.2	100
1	26	31,590	71.6	90.4
2	53	26,213	59.4	75.0
3	105	17,048	38.6	48.8
4	210	9,727	22.0	27.8
5	420	5,187	11.8	14.8

(표준곡선의 예, 결과값에는 적용하지 마십시오.)

7.2 검체

표준곡선의 수직축 상에 각 검체의 B/T(%) 또는 B/B₀(%)값을 위치시키고 수평축 상에서 대응하는 검체의 TT4 농도를 읽어들이다. nmol/L을 ng/dL로 전환하기 위해서는 결과에 77.7을 곱한다.

8. 품질 관리

좋은 실험 실습은 control 검체가 결과값의 질을 향상시켜주는데 이용되는 것을 내포한다. 검체들은 측정 검체와 같은 방법으로 처리 되어져야 하며 적절한 통계방법에 의해서 분석되어진 결과값이 권장된다. 만약 포장에 이상이 있거나 결과값에 문제가 있으면, 공급업체나 다음의 메일로 연락주시기 바랍니다. imunochem@beckman.com

9. 기댓값

개별 실험실마다 임상적으로 특성화된 많은 양의 검체들에 기초하여 자체의 정상값을 결정해야 한다.

	N	산술, (nmol/L)	평균, (nmol/L)	Min-Max, (nmol/L)	2.5-97.5 백분위 수(nmol/L)
Female	50	118.3	114.7	59.65 - 168.2	74.1-160.3
Male	50	96.42	96.76	59.13-141.4	68.91-122.3
Male and Female	100	107.4	101.9	59.13-168.2	69.32-159.7

10. 실험의 특징

(더 자세한 사항은 "APPENDIX" 를 참고하세요.)

제시된 자료는 예시 참고용입니다. 각 실험실의 결과들은 다를 수 있습니다.

10.1 민감도

10.1.1 분석적 민감도: 10.63 nmol/L

10.1.2 기능적 민감도: 16.71 nmol/L

10.2 특이도

본 kit에 사용된 항체는 T4에 매우 높은 특이성을 가지고 있다. 몇몇 관련 분자와는 낮은 교차반응이 관찰되었다.(예로 L-T3)

10.3 정밀도

10.3.1 측정내

검체들 은혈청 같은 종류로 25번 측정되었다. 변이계수는 3.29 %이하였다.

10.3.2 측정간

검체들은 혈청 10가지의 다른 종류로 2번 반복 측정되었다. 변이계수는 7.53 %이하였다.

10.4 정확도

10.4.1 회석 시험

고농도 검체는 표준용액 0번으로 회석했다. 혈청의 회수율은 88.1~112% (혈청).

10.4.2 회수율 시험

검체는 TT4 정량을 첨가하였다. 혈청의 회수율은 81.0~107%(혈청).

10.5. 측정범위 (분석적 민감도부터 최고 표준농도까지) 10.63 - 400 nM.

11. 사용의 제약조건

이 사용설명서를 준수하지 아니하면 결과에 크게 영향을 미칠 것이다. 결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.

용혈된 검체나 고지혈증, 황달이 있는 검체의 사용은 피한다.

본 검사에 사용되는 항체는 환자 검체의 헤테로필릭 항체의 간섭을 받을 수 있다. 정기적으로 동물에 노출되거나 면역치료 또는 항체를 생산할 수 있는 면역글로불린(예: HAMMA)을 이용하는 진단 검사를 받은 환자는 면역검사에 간섭을 받을 수 있다.

이런 항체들은 결과의 이상을 초래할 수 있다. 이런 항체를 가진 환자들의 검사는 주의를 요한다.

6.2 측정단계

pipeting하기 전에 모든 시약을 실온에 가져온다.

1단계 첨가 *	2단계 배양	3단계 계수
피복 시험관에 차례대로 첨가한다: - 표준용액, 정도관리혈청 또는 검체 20μl 와 - Tracer 500μl.	280rpm이상으로 흔들어주며 실온(18-25℃)에서 1시간동안 incubation한다.	총방사능(T) 측정을 위한 두 시험관을 제외하여 시험관의 내용물을 완전히 흡입한다. 결합형 cpm(B)과 총 cpm(T)를 1분간 계수한다.

* 총 cpm을 얻기 위한 2개의 시험관에 tracer 500 μ l를 첨가한다

**RADIOIMMUNOASSAY FOR THE IN VITRO DETERMINATION OF
TOTAL THYROXINE (TT4) IN HUMAN SERUM AND PLASMA**


Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

A. Specificity

Data on cross-reactivity with several hormones are presented in the following table:

Analogue	Cross reaction (%)
L-T4, (L-thyroxine), (3,3,5,5-tetraiodo-L-thyronine)	100
L-T3 - (3,3,5-triiodo-L-thyronine)	ND
3,5-diiodo-L-thyronine	ND
3,5-diiodo-L-tyrosine dihydrate	ND
3,3,5-triiodothyroacetic acid (TRIAC)	ND

ND = Non-Detectable (<0.1%)

B. Precision
B.1 Intra-assay

Serum	S1	S2	S3
Number of determinations	25	25	25
Mean (nmol/L)	89.35	122.0	265.2
CV (%)	3.29	2.64	2.55

Plasma-EDTA	P1	P2	P3
Number of determinations	25	25	25
Mean (nmol/L)	58.52	271.8	389.6
CV (%)	6.45	5.18	5.97

B.2 Inter-assay

Serum	S1	S2	S3
Number of determinations	10	10	10
Mean (nmol/L)	53.23	115.6	457.4
CV (%)	6.82	4.67	7.53

Plasma-EDTA	P1	P2	P3
Number of determinations	10	10	10
Mean (nmol/L)	40.78	117.3	353.6
CV (%)	10.70	8.68	4.74

C. Accuracy
C.1 Dilution test

Five serum samples were chosen for dilution test. Samples were serially diluted by calibrator 0 and assayed. Results are shown below:

Serum	Dilution	Serum		Ratio (%)
		Measured	Expected	
		Concentration (nmol/L)		Measured/ Expected
S1	-	166.1	-	-
	1:2	86.84	83.03	104.6
	1:4	36.58	41.51	88.12
	1:8	21.17	20.76	102.0
S2	-	234.0	-	-
	1:2	116.6	117.00	99.69
	1:4	57.55	58.50	98.38
	1:8	28.47	29.25	97.34
S3	-	13.60	14.62	93.00
	1:2	257.1	-	-
	1:4	132.2	128.54	102.8
	1:8	65.56	64.27	102.0
S4	-	34.09	32.14	106.1
	1:16	15.87	16.07	98.77
	1:2	253.2	-	-
	1:4	131.0	126.59	103.5
S5	-	66.20	65.51	101.1
	1:4	30.94	32.76	94.46
	1:8	16.54	16.38	101.0
	1:16	277.8	-	-
S5	-	140.9	138.88	101.5
	1:2	71.29	69.44	102.7
	1:4	37.29	34.72	107.4
	1:16	19.39	17.36	111.7

EDTA-plasma	Dilution	EDTA-plasma		Ratio (%)
		Measured	Expected	
		Concentration (nmol/L)		Measured/ Expected
P1	-	90.15	-	-
	1:2	47.14	45.08	104.6
	1:4	26.01	22.54	115.4
P2	-	188.5	-	-
	1:2	88.03	94.25	93.40
	1:4	38.73	47.13	82.19
P3	-	26.68	23.56	113.2
	1:2	290.1	-	-
	1:4	158.3	145.1	109.1
P4	-	82.47	72.53	113.7
	1:2	33.54	36.26	92.49
	1:16	20.12	18.13	111.0
P5	-	328.0	-	-
	1:2	165.8	164.0	101.1
	1:4	78.29	82.00	95.48
P5	-	35.09	41.00	85.59
	1:2	20.27	20.50	98.88
	1:4	346.2	-	-
P5	-	185.4	173.1	107.1
	1:2	90.85	86.56	105.0
	1:4	46.53	43.28	107.5
P5	-	22.71	21.64	104.9
	1:2	22.71	21.64	104.9
	1:4	22.71	21.64	104.9

C.2 Recovery test

The recovery was performed on five serum/EDTA-plasma samples. Samples were spiked by calibrators with higher concentration. Volume of added calibrator was up to 10% of volume of samples. Samples were then assayed. Results are shown in the table below:

Serum	Endogen. conc. nmol/L	Added conc. nmol/L	Expected conc. nmol/L	Measured conc. nmol/L	Ratio (%) Measured/ Expected,
S1	66.75	46.32	113.1	114.2	101.0
	65.46	90.87	156.3	142.1	90.91
	61.89	214.8	276.7	228.3	82.53
S2	67.76	46.32	114.1	122.2	107.1
	66.46	90.87	157.3	155.9	99.07
	62.84	214.8	277.6	256.9	92.55
S3	116.7	76.21	192.9	176.3	91.40
	113.0	147.7	260.7	219.9	84.37
	109.6	214.8	324.4	262.7	81.00
S4	108.2	76.21	184.4	172.8	93.71
	104.8	147.7	252.5	230.9	91.45
	101.6	214.8	316.4	268.8	84.95
S5	93.82	46.32	140.1	144.3	103.0
	92.02	90.87	182.9	170.3	93.14
	87.00	214.8	301.8	269.1	89.16

EDTA-plasma	Endogen. conc. nmol/L	Added conc. nmol/L	Expected conc. nmol/L	Measured conc. nmol/L	Ratio (%) Measured/ Expected,
P1	61.57	9.27	70.84	71.75	101.3
	61.57	18.55	80.12	78.53	98.02
	61.57	37.09	98.66	92.74	94.00
P2	75.93	9.27	85.20	80.27	94.21
	75.93	18.55	94.48	90.96	96.27
	75.93	37.09	113.0	105.4	93.24
P3	73.95	9.27	83.22	82.00	98.53
	73.95	18.55	92.50	90.32	97.64
	73.95	37.09	111.0	103.4	93.08
P4	96.75	1.65	98.40	103.7	105.3
	96.75	3.24	99.99	114.0	114.0
	96.75	4.58	101.3	114.6	113.1
P5	69.49	9.27	78.76	83.01	105.4
	69.49	18.55	88.04	85.66	97.30
	69.49	37.09	106.6	110.5	103.6

D. Kinetics

Incubation time may be prolonged by one hour without effect on the results.

E. ¹²⁵I Characteristics

T_{1/2} (¹²⁵I) = 1443 h = 60.14 d

¹²⁵ I	E (MeV)	%
γ	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25



Use by / Utiliser jusqu'à / Verwendbar bis / Utilizzare entro / Use antes de /
Ημερομηνία λήξης / Použitelné do / Použitelné do / Tarihinden önce kullanınız /
Użyć do / Felhasználható/ Naudoti iki / Использовать до / 使用 / 使用到 / 사용



In Vitro diagnostic Device / Diagnostic in Vitro / InVitro Diagnostikum / Diagnostico
in vitro/ Diagnostico in Vitro / In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν / Pro
diagnostiku in vitro / Pre diagnostiku in vitro / In Vitro Teşhis Kiti / Do diagnostyki in
vitro / In vitro diagnostikum / In vitro diagnostikai / Для ин витро диагностики
/體外試劑 / 体外诊断设备 / 체외진단용



Catalogue Number / Référence catalogue / Bestellnummer / Numero di catalogo /
Numero de catalogo / Αριθμός καταλόγου / Katalogové číslo / Katalógové číslo /
Katalog Numarası / Numer katalogowy / Katalógusszám / Katalogo Nr. /
Каталожный № / 目錄數量 / 试样编码 / 카달로그 넘버



Batch code / Numéro de lot / Chargenbezeichnung / Coddice del lotto / Codice de
lote / Αριθμός Παρτίδας / Číslo šarže / Číslo šarže / Lot numarası / Numer serii /
Lot szám / Serijos Nr. / № серии / 批號 / 批次编码 / 배치코드



Caution, see instructions for use / Attention, consulter la notice d'utilisation /
Achtung, Gebrauchsanweisung beachten / Attenzione vedere le istruzioni per l'uso
/ Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδὰ έντυπα / Pozor, čtěte pozorně návod
/ Pozor, čítajte návod pozorne / Dikkat, kullanım kılavuzuna bakınız / Uwaga, patrz
instrukcja użycia / Figyelem, olvassa el a használati utasítást / Dėmesio, atidžiai
perskaitykite instrukciją / Внимание, читайте тщательно инструкцию / 注意 /
注意 / 주의, 사용설명서 참고



Consult Instructions for Use / Consulter la notice d'utilisation / Gebrauchs-
anweisung beachten / Leggere le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones
de uso / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Viz návod / Vid' návod / Kullanna
kılavuzuna bakınız/ Patrz instrukcja użycia / Olvassa el a használati utasítást /
Žiūrėti instrukciją / Смотрите инструкцию / 諮詢使用說明書 / 参见使用说明 /
사용설명서 참조



Temperature limitation / Limites de température / Temperaturgrenzen / Limiti di
temperatura / Limites de temperatura / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Rozmezi
skladovacích teplot / Rozsahy skladovacích teplot / Sıcaklık limitleri/ Ograniczenie
temperatury / Hőmérséklet határok / Saugojimo temperatūrų intervalas / Диапазон
температур хранения / 溫度限制 / 温度限制 / 저장 온도



Radioactive / Radioactif / Radioattivo / Radioaktiv / Radioactivo / Ραδιενεργός /
Radioaktivní / Rádioaktívne / Radyoaktif/ Radioaktywność / Radioaktiv / Radioak-
tyvus / Радиоактивный / 放射線 / 放射性 / 방사능



For XX tests / Pour XX dosages / Für XX Bestimmungen / Per XX dosaggi / Para
XX ensayos / Περιεχόμενο επαρκές για XX εξετάσεις / Lze použít pro XX testů /
Určené na XX testov / XX Testleri için/ Zawartość na XX testów / Tartalma XX
teszt elvégzésére elegendő / Pakanka XX testui atlikti / Предназначен для XX
тестов / 每試劑有多少量 / XX实验 / 테스트용



Manufacturer / Fabricant / Hersteller / Fabbicante / Fabricante / Κατασκευαστής /
Výrobce / Výrobca / Üretici / Producent / Gyártó / Gamintojas / Производитель /
製造商 / 製造商 / 제조사

POLSKI
Instrukcje użycia (IFU) przetłumaczone na inne języki są dostępne online pod adresem www.beckmancoulter.com/ifu . Jeśli dysponuje się już przetłumaczoną wersją instrukcji z poprzedniego użycia, należy sprawdzić daty wersji: data wersji przetłumaczonej instrukcji musi być identyczna z datą wersji w języku angielskim dostarczonej w ulotce opakowania. Jeśli posiadana, przetłumaczona instrukcja ma inną datę, należy pobrać przetłumaczoną IFU ze strony internetowej. Przetłumaczoną Instrukcję użycia można również otrzymać od przedstawiciela handlowego lub pracowników pomocy technicznej firmy Beckman Coulter, lub wysłać prośbę na adres e-mail imunochem@beckman.com .
LIETUVIŠKAI
Naudojimo instrukcijas, išverstas į daugelį kalbų, galima rasti internete adresu www.beckmancoulter.com/ifu . Jeigu jau turite naudojimo instrukcijas savo kalba iš ankščiau, prašome patikrinti peržiūros datas: naudojimo instrukcijų vietos kalba peržiūros data turi būti tokia pati, kaip ir peržiūros, pateiktos kaip pakuotės lapelis, anglų kalba data. Jeigu taip nėra, prašome naudojimo instrukcijas vietos kalba atsisiųsti iš mūsų tinklalapio. Išverstų instrukcijų taip pat teiraukitės savo vietos Beckman Coulter prekybos atstovo, techninės pagalbos centre arba išsiųskite prašymą el. paštu imunochem@beckman.com .
TURKCE
www.beckmancoulter.com/ifu adresinde kullanım talimatlarının farklı dillerde çevirileri bulunabilir. Halihazırda kendi dilinizde kullanmakta olduğunuz kullanım talimatlarınız varsa, lütfen revizyon tarihlerini kontrol edin: kendi dilinizdeki kullanım talimatının revizyon tarihi İngilizce prospektüsün revizyon tarihiyle aynı olmalıdır. Aynı değilse, lütfen Web sitesinden kendi dilinizdeki kullanım talimatını indirin. Ayrıca, kullanım talimatlarının çevirilerini almak için yerel Beckman Coulter satış temsilcinize veya teknik destek kuruluşuna başvurabilirsiniz veya imunochem@beckman.com mail adresinden talep edebilirsiniz.
PORTUGUÊS
As Instruções de Utilização (IFUs - Instructions for Use) traduzidas em diversos idiomas encontram-se disponíveis on-line em www.beckmancoulter.com/ifu . Se já tiver à sua disposição uma IFU no idioma local devido a uma utilização anterior, verifique as datas de revisão: a data da revisão da IFU na língua local tem de ser idêntica à data da revisão em inglês indicada na embalagem. Se não for esse o caso, faça o download da IFU no idioma local a partir do Web site. Pode também contactar o seu representante local ou assistência técnica da Beckman Coulter para obter IFUs traduzidas ou enviar um pedido para imunochem@beckman.com .
中文
在网址: www.beckmancoulter.com/ifu 上可以在线查找被翻译成多种语言的使用说明书。在此之前如果你已经有任意可使用的当地语言版使用说明书, 请核对修正日期: 当地语言使用说明书修正日期必须与包装盒内的英语版本使用说明书日期相同。 如果不是这种情况, 请从该网站上下载当地语言说明书, 你也可以联系当地的Beckman Coulter销售代表或技术支持组织获得翻译说明书或者给 imunochem@beckman.com 发送一个请求。
한국어
여러 언어로 해석된 IFU는 www.beckmancoulter.com/ifu 온라인에서 이용 가능합니다. 만약 전에 이용하던 번역된 IFU를 사용한다면 개정 날짜를 확인하기 바랍니다. 개정된 날짜는 제품에 동봉된 영어버전의 개정 날짜와 동일해야 합니다.. 그렇지 않다면, 웹사이트에서 최신 번역본 IFU를 다운받으십시오. 또한 Beckman Coulter 판매 대리점 또는 기술지원부서, 혹은 imunochem@beckman.com 으로 요청하실 수 있습니다.

SVENSKA
Bruksanvisningar översatta till ett antal olika språk kan hämtas online på www.beckmancoulter.com/ifu . Om du redan har en översättning av en bruksanvisning sedan tidigare, ber vi dig att kontrollera revisionsdatum revisionsdatum för den översatta bruksanvisningen måste vara identiskt med revisionsdatum för den engelska bruksanvisningen i bipacksedeln. Om detta inte är fallet ber vi dig att ladda ner översättningen av bruksanvisningen från webbplatsen. Alternativt kan du få översatta bruksanvisningar via Beckman Coulters lokala säljrepresentant eller tekniska supportorganisation eller beställa dem genom att maila till imunochem@beckman.com
DANSK
Brugsanvisninger oversat til forskellige sprog kan findes online på www.beckmancoulter.com/ifu . Hvis du allerede har en brugsanvisning på det lokale sprog til rådighed fra en tidligere lejlighed, skal revisionsdatoen kontrolleres. Revisionsdatoen for brugsanvisningen på det lokale sprog skal være identisk med datoen for den engelske version, der medfølger som indlægsseddel. Hvis dette ikke er tilfældet skal brugsanvisningen på det lokale sprog downloades fra hjemmesiden. Det er også muligt at få de oversatte brugsanvisninger ved at kontakte Beckman Coulter's lokale repræsentant eller afdeling for teknisk support eller sende en anmodning herom til imunochem@beckman.com
MAGYAR
A több nyelvre lefordított Használati Utasítás (IFU) on-line elérhető a www.beckmancoulter.com/ifu címen. Ha egy korábbi használatból már van helyi nyelvű Használati Utasítása, akkor kérjük, hogy ellenőrizze annak kiadási dátumát: a helyi nyelvű Használati Utasítás kiadási dátumának azonosnak kell lennie a csomagolásban elhelyezett angol nyelvű kiadás dátumával. Ha nem ez a helyzet, akkor kérjük, hogy a helyi nyelvű Használati Utasítást töltsse le a webcímről. Lefordított Használati Utasítások megszerzéséhez kapcsolatba léphet az Ön helyi Beckman Coulter kereskedelmi képviselőjével vagy műszaki támogatást nyújtó szervezetével is, vagy küldjön egy kérelmet az imunochem@beckman.com címre.
БЪЛГАРИЯ
Преведени на много езици инструкции за употреба са налични на интернет страницата на Бекман Култур: www.beckmancoulter.com/ifu . Ако Вие вече имате на разположение преведена на местния език инструкция за употреба, преди използването ѝ моля проверете данните за извършени промени: промените в данните в преведената на местния език инструкция за употреба трябва да са еднакви с промените в данните от версията на английски език, приложена към опаковката. Ако това не е така, моля изтеглете си преведена на местния език инструкция за употреба от интернет страницата. Вие може също така да контактувате с търговския представител или обслужващия сервиз на Бекман Култур във Вашата страна, за да получите преведена инструкция за употреба, или да изпратите искане до imunochem@beckman.com
繁體中文
請至 www.beckmancoulter.com/ifu 搜尋多國語言使用說明書。如果您曾使用本產品而取得當地語言使用說明書, 請檢查修訂日期: 當地語言版本的修訂日期須與包裝盒內所提供英文版本的日期相同。 若有不一致的情況, 請至網頁下載當地語言版本。您也可以聯絡 Beckman Coulter公司銷售代表或技術支援部門索取使用說明書譯文或發送至您的要求至 imunochem@beckman.com 。

