

PATHOZYME® FREE THYROXINE **Ref** OD467

Test ImunoEnzimatic pentru determinarea cantitativă a FT4 în serul uman

Depozitați la 2°C - 8°C . NU CONGELAȚI.

Doar pentru diagnostic in-vitro.

INTRODUCERE

L- Tiroxină (T4) sau 3,5,3',5'-tetraiodotironină este hormonul tiroidian cel mai frecvent măsurat pentru diagnosticul funcției tiroidiene. T4 influențează în principal sinteza de proteine și consumul de oxigen teoretic în toate tesuturile însă în același timp influențează creșterea, dezvoltarea și maturarea sexuală. T4 este sintetizat de tiroidă și este secretat în fluxul sanguin. Aici T4 este legat de proteine serice de pentru a fi transportat în celule. Proteina majoră de transport este Globulina de legare a tiroxinei (TBG) care în mod normal reprezintă 80% din T4 legat. Alte proteine care leagă hormonul tiroidian sunt prealbumina de legare a tiroxinei și albumina. Cea mai mare parte a T4 seric este legat de aceste proteine de transport și doar 0,03% este liber să-și exercite efectul asupra celulelor. T4 liber (fT4) reprezintă fracția activă metabolic; din acest motiv, măsurarea concentrației fT4 este considerată a fi un indicator al stării tiroidei. Hipotiroidismul primar determină o producție scăzută de T4 la nivelul tiroidei, consecința fiind o concentrație anormal de scăzută de fT4 în sânge. Hiperotiroidismul primar determină o producție excesivă tiroidiană de T4 și concentrații mari de fT4 asociate. Concentrația totală serică de T4 este dependentă de nivelul TBG circulant ca și de status-ul tiroidian al pacientului. Concentrația de TBG poate fi afectată de anumite medicamente, hormoni steroizieni, sarcină și alte afecțiuni non-tiroidiene. În generația anterioară de teste ale funcției tiroidiene, efectul unice concentrații variabile de TBG era evaluat prin calcularea indexului de tiroxină liberă (ITF). Acest ITF este produsul concentrației totale T4 și TU (uptake tiroidian) care evaluează numărul de locuri de legare disponibile pe TBG. Această evaluare necesită efectuarea a două teste (T4 total și TU) însă nu oferă un indicator mai bun al status-ului tiroidian decât T4 singur. Testele fT4 sunt realizate pentru a reflecta direct echilibrul existent în ser între T4 și T4 legat de TGB. Aceste metode, inclusiv testele fT4, pot reflecta în general status-ul tiroidian printr-un singur test.

UTILIZARE

PATHOZYME FREE T4 este un test imunoenzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă de tiroxină liberă (fT4) în serul uman. A fi folosiți doar de personalul medical.

PRINCIPIUL TESTULUI

fT4 este un test imunoenzimatic, competitiv, de fază solidă. Probele de la pacient, standardele, conjugatul enzimă-tiroxină sunt adăugate în godeurile de care sunt fixați anticorpii T4. După incubare la temperatura camerei, godeurile sunt spălate pentru a îndepărta conjugatul T4 nelegat. La adăugarea substratului (TMB), va apărea o culoare doar în godeurile în care este prezentă enzima, ceea ce indică absența fT4. Reacția este oprită prin adăugarea acidului clorhidric diluat după care se citește absorbanta la 450nm. Intensitatea culorii formate este proporțională cu cantitatea de enzimă prezentă și este invers proporțională cu cantitatea de fT4 nemarcat din probă. Acest test a fost calibrat cu standarde interne. Pentru acest test nu există standarde internaționale.

CONȚINUT



Microtitre Plate	12 x 8 godeuri x 1
Godeuri detașabile "căptușite" cu anticorpi specifici conținuți într-o pungă de folie ce conține un desicant.	
Cal A	0 pg/ml
Standard Referință: Ser uman fără T4 liber. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal B	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: fT4 diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal C	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: fT4 diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal D	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: fT4 diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal E	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: fT4 diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal F	Nivel menționat pe flacon
Standard Referință: fT4 diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Conj	10.5ml
Conjugat T4 HRP: Conjugat fT4 – HRP (peroxidază hrean). Gata de lucru. (roz)	
Subs TMB	11ml
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)	
Soln Stop HCl 1M	11ml
Soluție de Stopare: acid clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (Incolor)	
Broșură instrucțiuni și Fișa de date EIA	
	1 + 1

MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100μl, 200μl și 1000μl
Vîrfuri de pipetă de unică folosință
Hîrte absorbantă
Cititor de microplăci cu filtru de 450nm
Hîrte milimetrice
Sticlăne de laborator foarte curată.

PRECAUȚIUNI

PATHOZYME FREE T4 conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV I și II și pentru HbsAg, la nivel de donor unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o garanție completă că

produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atît în timpul utilizării cît și sunt deșeurii. Nu ingerați.

Reactivii PATHOZYME FREE T4 nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic atît cînd sunt folosite cît și cînd sunt deșeurii. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare PATHOZYME FREE T4 este acid clorhidric diluat și este deci corozivă. Manipulați cu grijă. În caz de contact cu tegumentul spălați cu grijă cu apă.

Reactivii PATHOZYME FREE T4 conțin Proclin™ 300* în concentrație de 1% ca și conservant. Este toxică atunci cînd este ingerată. În caz de contact, spălați bine cu apă de la robinet și consultați un medic.
* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată a ROHM & HAAS Limited.

DEPOZITARE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată pînă la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV (cu excepția depozitării standardelor) deoarece acesta va fi iremediabil alterat.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Recoltați o probă de sînge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sînge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt.

Nu folosiți pentru testare ser hemolizat, contaminat sau lipemic deoarece aceasta va influența nedorit rezultatele.

Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de 1 an. Probele decongelate trebuie amestecate bine înainte de a fi utilizate.

Nu folosiți ca și conservant Azida sodică deoarece aceasta va inhiba sistemul enzimatic Peroxidază.

Nu congelați-decongelați în mod repetat probele – veți obține rezultate false.

PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor înainte de utilizare. Evitați formarea spumei.

LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor tipuri de probe, altele decît serul nu a fost validată pentru acest test. Nu există protocol de reutilizare pentru acest produs.

Atunci cînd faceți interpretarea testului este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie să fie stabilit doar pe baza rezultatelor unui singur test clinic.

PROCEDURA DE TESTARE

- Aduceți toate componentele kit-ului și serul de testat la temperatura camerei (20°C-25°C) înainte de a începe testarea.
- Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare procesare de probe. Fixați numărul dorit de godeuri în stativ. Înregistrați poziția standardelor și a serului de testat pe Fișa de Înregistrare a Datelor EIA.
- Stripurile nefolosite trebuie reșigate în pungă de folie conținînd desicant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
- Pipetați 50μl de Standarde și ser de testat în godeurile stabilite.
- Adăugați 100μl de Conjugat Tiroxin Enzimă în fiecare godeu. Amestecați prin rotire 30 de secunde.
- Incubați 60 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
- La sfîrșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnînd brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșeurii cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hîrtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeurii să se afle un dezinfectant corespunzător.
- Spălare Manuală: Umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu. Întoarceți brusc placa deasupra recipientului de deșeurii biologice. Loviți placa de hîrtie absorbantă. Spălați godeurile goale de 5 ori.
- Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hîrtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
- Spălare Automată: controlați ca 300μl de apă distilată să fie pipetați în fiecare godeu și ca în recipientul cu deșeurii să fie adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile de 5 ori.
- Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu
- Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
- Opriti reacția adăugînd 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu.
- Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă a culorii albastre în galben.
- Citiți imediat densitatea optică (pînă în 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucișată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece pot fi contaminați.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați, aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20°- 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blinde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

CALCULAREA REZULTATELOR

Calculați valoarea absorbantei medii (A_{550}) pentru fiecare set de Standarde de Referință și pentru probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbanta medie pentru fiecare Standard de Referință în funcție de concentrația în pg/ml pe hîrtie milimetrică, cu valorile absorbantei pe axa Y și concentrațiile pe axa X.

Folosiți valorile absorbantei medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de FT3 în pg/ml din curba standard.

Dacă nivelurile Calibratorilor sau ale probelor cu valori cunoscute nu dau rezultatele scontate, rezultatele testului trebuie considerate invalide.

Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Graficul produs de calibratori trebuie să aibă o formă hiperbolică cu densitatea optică (DO) citită la 450 nm proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mare de 1,5 iar DO a calibratorului F mai mică de 0,75 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Folosind probe selectate aleator dintr-o policlinică, domeniul normal al FT4 este de 8-22 pg/ml.

Concentrația minim detectabilă de FT4 evaluată cu PATHOZYME FREE T4 este estimată a fi de 0,5 pg/ml.

Substanță	Reactivitate încrucișată (%) la 100µg/ml echivalent tiroxină
d - Triiodotironină	0,0150
l - Triiodotironină	0,0300
Iodotirozină	0,0001
Diiodotirozină	0,0001
Diiodotironină	0,0001

DATE DE EVALUARE

Rezultate calibrate cu competitori importanți și cu standarde interne. Coeficientul de variație al PATHOZYME FREE T4 este mai mic sau egal cu 10%.

La o evaluare dintre kit-ul Pathozyyme Free T3 și o metodă analogă de radio-imuno-test are (RIA) pentru probe cu niveluri cuprinse între 1 și 80 pg/ml au fost generate următoarele date.

Număr de Probe	85
Coeficient de Corelație	0,978
Pantă	0,952
Intercept	0,1
Medie Omega	15 pg/ml
Medie RIA	14 pg/ml

Aceste kit-uri au o bună corelație.

BIBLIOGRAFIE

1. **Tietz, N.W.**, Fundamentals of Clinical Chemistry 2nd Ed., p602, Saunders Press, Phila. 1976.
2. **Horworth, P.J.N.**, Ward, R.L. J.Clin.Pathol. 1972; 25:259-62.
3. **Sati, C., Chatter, A.J., Watts, N.** Fundamentals of Clinical Chemistry. Ed. Tietz, N.W. 3rd Ed. p586. Saunders Press Phila. 1987.
4. **Lundberg, P.A., Jagenburg, R., Lindstedt, G., Nystrom, E.** Clin. Chem. 1982; 28:1241.
5. **Melmed, S., Geola, F.L., Reed, A.W., Pekary, A.E., Park, J., Hershmen, J.M.** Clin. Endocrin. Metabol. 1982; 54:300.
6. **Ingbar, S.H.** et al. J. Clin. Invest. 1965; 44:1679.
7. **Selenkow, H.A., and Robin, N.I.** J. Maine Med. Assoc. 1970; 61:199.
8. **Oppenheimer, J.H.** et al. J. Clin. Invest. 1962; 42:1769.
9. **Dick, M., Watson, F.** Med. J. Aust. 1980; 1:115.
10. **Dussault, J.H., Turcotte, R., and Gieyda, H.** Clin. Endocrin. Metabol. 1976; 43:232-285.
11. **Tarnoky, A.L.** Advan. Clin. Chem. 1981; 21:101-146.
12. **Emrich, D., Schondube, H., Sehlen, S., and Schreivagel, I.** Nuc. Compact. 1985; 16:392.
13. **Procedures for Decontamination of Plumbing Systems Containing Copper and/or Lead azides**, Dept. of H.E.W. N.I.O.S.H. Rockville, Maryland, 1976.

GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

1. Pipetați 50µl de standarde sau specimene în fiecare godeu.
2. Pipetați 100µl de Conjugat Tiroxin enzimă în fiecare godeu și amestecați bine timp de 30 de secunde.
3. Incubați 60 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
4. Aruncați conținutul godeurilor și spălați de 5 ori cu apă distilată.
5. Adăugați 100µl de Soluție Substrat în fiecare godeu. Amestecați ușor timp de 5 secunde.
6. Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C- 25°C).
7. Adăugați 100µl de Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați bine timp de 30 de secunde.
8. Citiți imediat densitatea optică (nu mai târziu de 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu filtru de 450nm.

8119 ISSUE 5B Revised February 2011 ROMANIAN
©Omega Diagnostics Ltd. 2011



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISI 13485 CERTIFIED COMPANY