

Instructions for Use

Free Thyroxine (FT4) ELISA

IVD



REF EIA-2386

 96



DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße. 18, D-35039 Marburg
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50
Website: www.drg-diagnostics.de
E-mail: drg@drg-diagnostics.de

Distributed by:



DRG International, Inc., USA
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556
Website: www.drg-international.com
E-mail: corp@drg-international.com

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.
Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.
Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.
Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella die Contenuti / Tabla de Contenidos

1	INTENDED USE.....	3
2	PRINCIPLE OF THE TEST	3
3	REAGENTS	4
4	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION.....	4
5	STORAGE OF TEST KIT AND INSTRUMENTATION	4
6	REAGENT PREPARATION	4
7	ASSAY PROCEDURE	5
8	CALCULATION OF RESULTS.....	5
9	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	6
10	EXPECTED VALUES.....	7
11	CLINICAL SIGNIFICANCE.....	7
12	LIMITATIONS OF THE PROCEDURE	7
13	REFERENCES/LITERATURE.....	7
1	VERWENDUNGSZWECK.....	8
2	TESTPRINZIP	8
3	REAGENZIEN	8
4	PROBEN	8
5	AUFBEWAHRUNG DER REAGENZIEN.....	8
6	VORBEREITUNG DER REAGENZIEN.....	8
7	TESTDURCHFÜHRUNG	9
8	BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	9
9	TEST-CHARAKTERISITKA	9
10	ERWARTETE WERTE	10
11	KLINISCHE RELEVANZ	10
12	GRENZEN DES TESTS	10
13	REFERENZEN / LITERATUR	10
1	INTRODUZIONE	11
2	PRINCIPIO DEL TEST	11
3	REAGENTI.....	11
4	COLLEZIONE DEI CAMPIONI	12
5	MAGAZZINAGGIO DEI REAGENTI.....	12
6	PREPARAZIONE DEI REAGENTI.....	12
7	ATTUAZIONE DEL TEST	12
8	CALCOLO DEI RISULTATI.....	12
9	CARATTERISTICHE DEL TEST.....	13
10	VALORI NORMALI.....	13
11	RILEVANZA CLINICA	13
12	LIMITAZIONE DEL TEST.....	13
13	RIFERIMENTI / BIBLIOGRAFIA.....	13

1	USO PREVISTO	14
2	PRINCIPIO DE LA PRUEBA	14
3	REACTIVOS.....	15
4	RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	15
5	ALMACENAMIENTO DEL KIT Y EL INSTRUMENTAL DE LA PRUEBA.....	15
6	PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS	15
7	PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO	16
8	CÁLCULO DE LOS RESULTADOS	16
9	CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO.....	17
10	VALORES ESPERADOS	18
11	SIGNIFICADO CLÍNICO	18
12	LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.....	18
13	BIBLIOGRAFÍA / LITERATURA	18
	SYMBOLS USED.....	19

For In Vitro Diagnostic Use Only

Store at 2 °C to 8 °C.

1 INTENDED USE

For the quantitative determination of Free Thyroxine (fT4) concentration in human serum.

1.1 Introduction

L-Thyroxine (T4) or 3,5,3',5'-tetraiodothyronine is the most commonly measured thyroid hormone for the diagnosis of thyroid function. T4 has its primary influence on protein synthesis and oxygen consumption in virtually all tissues but it is also important for growth, development, and sexual maturation.

T4 is synthesized by the thyroid gland and is secreted into the bloodstream. Here the T4 becomes bound to serum proteins for transport to the cells. The major transport protein is Thyroxine Binding Globulin (TBG) which normally accounts for 80% of the bound T4. Other thyroid hormone binding proteins are Thyroxine Binding Prealbumin and Albumin. Most of the serum T4 is bound to these transport proteins leaving only about 0.03% free to exert its effect on cells. It is the free T4 (fT4) that represents the metabolically active fraction; for this reason the measurement of fT4 concentration is considered to be an indicator of patient thyroid status.

Primary hypothyroidism results in underproduction of T4 by the thyroid gland and consequently an abnormally low circulating fT4 concentration in the blood. Primary hyperthyroidism leads to excessive thyroid production on T4 and resulting elevated fT4 concentration.

Total serum T4 concentrations are dependent on the level of circulating TBG as well as the patient's thyroid status. The concentration of TBG can be affected by certain drugs, steroid hormones, pregnancy, and by various nonthyroid illnesses. In an earlier generation of thyroid function tests, the effect of variable TBG concentration was dealt with by calculating a Free Thyroxine Index (FTI). This FTI is the product of Total T4 concentration and Thyroid Uptake (TU), which assesses the number of available binding sites on the TBG. This approach requires carrying out two separate assay determinations (total T4 and TU), but does provide a better indicator of thyroid status than total T4 alone.

fT4 tests are designed to directly reflect the equilibrium existing in serum between T4 and TGB-bound T4. These methods, including this fT4 test, can generally reflect thyroid status in a single assay.

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The fT4 test is a solid phase competitive enzyme immunoassay. Patient serum samples, standards, and Thyroxine-Enzyme Conjugate Working Reagent are added to wells coated with monoclonal T4 antibody. fT4 in the patient specimen and the T4 labeled conjugate compete for available binding sites on the antibody. After a 60 minutes incubation at room temperature, the wells are washed with water to remove unbound T4 conjugate. A solution of H₂O₂/TMB is then added and incubated for 20 minutes, resulting in the development of blue color. The color development is stopped with the addition of 3N HCl, and the absorbance is measured spectrophotometrically at 450 nm. The intensity of the color formed is proportional to the amount of enzyme present and is inversely related to the amount of unlabeled fT4 in the sample. By reference to a series of fT4 standards assayed in the same way, the concentration of fT4 in the unknown sample is quantified.

3 REAGENTS

3.1 Materials provided with the kit

1. Antibody **Coated Microplate** (1 plate, 96 wells)
Microtiter wells coated with Anti-T4
2. **fT4-Enzyme Conjugate** Reagent, ready to use (1 vial, 10.5 mL)
Contains T4 Ab conjugated to horseradish peroxidase with preservatives
3. Free T4 Reference **Standard Set** (1.0 mL/vial)
Six vials of serum reference for fT4 at approximate* concentrations of 0 - 0.4 - 1.1 - 2.2 - 4.1, and 8.0 ng/dL.
A preservative has been added; liquid, ready to use
** Exact levels are given on the labels on a lot specific basis*
For SI units: 1 ng/dL x 12.9 = pmol/L
4. **Color Reagent A** (1 bottle, 13 mL)
Contains hydrogen peroxide in acetate buffer
5. **Color Reagent B** (1 bottle, 13 mL)
Contains 3, 3', 5, 5' tetramethylbenzidine (TMB) stabilized in buffer solution.
6. **Stop Solution** (3N HCl) (1 bottle, 10 mL)
Contains diluted hydrochloric acid

3.2 Materials required but not provided

- Pipette capable of delivering 50 µL volumes with a precision of better than 1.5%.
- Dispenser(s) for repetitive deliveries of 0.050 mL and 0.200 mL volumes with a precision of better than 1.5%.
- Microplate Reader with 450 nm wavelength absorbance capability.
- Test tubes for mixing Color Reagent A with Color Reagent B.
- Absorbent paper for blotting the microplate wells.
- Timer.
- Control Sera for quality control.

4 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum should be prepared from a whole blood specimen obtained by acceptable medical techniques.

This kit is for use with serum samples without additives only.

Serum samples may be refrigerated at 2 °C - 8°C for a maximum period of 48 hours. If the samples cannot be assayed within 48 hours, they may be stored at temperatures of -20 °C for up to 30 days.

5 STORAGE OF TEST KIT AND INSTRUMENTATION

Unopened test kits should be stored at 2 °C - 8 °C upon receipt and the microtiter plate should be kept in a sealed bag with desiccants to minimize exposure to damp air.

Opened test kits will remain stable until the expiration date shown, provided it is stored as described above.

A microtiter plate reader with a bandwidth of 10 nm or less and an optical density range of 0 - 2.0 OD or greater at 450 nm wavelength is acceptable for use in absorbance measurement.

6 REAGENT PREPARATION

Working Substrate Solution – Prepare immediately before use

To prepare H₂O₂/TMB solution, make a 1:1 mixing of Color Reagent A with Color Reagent B up to 1 hour before use. Mix gently to ensure complete mixing.

The prepared H₂O₂/TMB reagent should be made at least 15 minutes before use and is stable at room temperature in the dark for up to 3 hours. Discard excess after use.

7 ASSAY PROCEDURE

Before proceeding with the assay, bring all reagents, serum references and controls to room temperature (18 °C - 25 °C).

1. Format the microplates' wells for each serum reference, control, and patient specimen to be assayed in duplicate.
2. Pipette 0.050 mL (50 µL) of the appropriate serum reference, control and specimen into the assigned well.
3. Add 0.100 mL (100 µL) of Free T4 Enzyme Conjugate Reagent to all wells.
4. Swirl the microplate gently for 20-30 seconds to mix.
5. Incubate 60 minutes at room temperature.
6. Remove the incubation mixture by emptying the plate content into a waste container. Rinse and empty the microtiter plate 5 times with deionized water. Strike the microtiter plate sharply onto absorbent paper or paper towels to remove all residual water droplets.
7. Add 0.200 mL (200 µL) of Working Substrate Solution to all wells (see Reagent Preparation Section). **Always add reagents in the same order to minimize reaction time differences between wells.** Gently mix for 10 seconds.
8. Incubate at room temperature in the dark for 20 minutes.
9. Stop the reaction by adding 0.050 mL (50 µL) of 3N HCl (Stop Solution) to each well.
10. Gently mix for 30 seconds. **It is important to make sure that all the blue color changes to yellow color completely.**
11. Read absorbance at 450 nm with a microtiter well reader within 30 minutes.

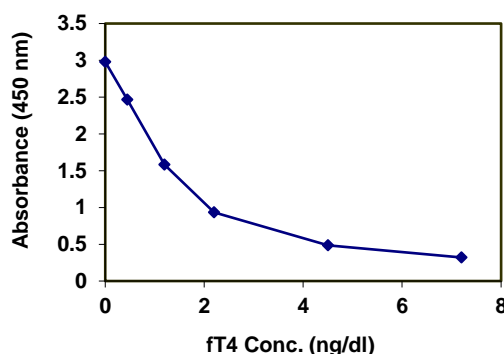
8 CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean absorbance value (A_{450}) for each set of reference standards, controls and patient samples.
2. Construct a standard curve by plotting the mean absorbance obtained for each reference standard against its concentration in ng/dL on graph paper, with absorbance values on the vertical or Y axis, and concentrations on the horizontal or X axis.
3. Use the mean absorbance values for each specimen to determine the corresponding concentration of fT4 in ng/dL from the standard curve.

8.1 Example of Standard Curve

Results of a typical standard run with optical density readings at 450 nm shown in the Y axis against fT4 concentrations shown in the X axis. This standard curve is for the purpose of illustration only, and should not be used to calculate unknowns. Each user should obtain his or her own data and standard curve in each experiment.

fT4 (ng/dL)	Absorbance (450 nm)
0	2.797
0.45	2.465
1.2	1.582
2.2	0.934
4.5	0.487
7.2	0.320



9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Accuracy

The fT4 Microplate EIA Test System was compared with a coated tube radioimmunoassay method. Biological specimens from hypothyroid, euthyroid, and hyperthyroid populations were used (Values ranged from 0.1 ng/dL – 8 ng/dL). The total number of such specimens was 166. The least square regression equation and the correlation coefficient were computed for this fT4 Test System EIA in comparison with the reference method. The data obtained is shown in the table below:

Method	Mean (X)	Least Square Regression Analysis	Coefficient
This method	1.60	$y = 0.9513(x) + 0.0582$	0.9597
Reference	1.64		

Only slight amounts of bias between this method and the reference method are indicated by the closeness of the mean values. The least square regression equation and correlation coefficient indicates excellent method agreement.

9.2 Precision

The intra and inter assay precision of the fT4 Microplate EIA Test System were determined by analyses on three different levels of pool control sera. The number, mean values, standard deviation and coefficient of variation for each of these control sera are shown in the following tables:

Intra - Assay Precision (Values in ng/dL)

	Low	Medium	High
Number (n)	20	20	20
Mean	0.550	1.740	3.250
1 S.D.	0.061	0.074	0.106
% CV	10.98	4.26	3.25

Inter - Assay Precision (Values in ng/dL)

	Low	Medium	High
Number (n)	10	10	10
Mean	0.480	1.410	3.490
1 S.D.	0.052	0.085	0.279
% CV	10.81	6.01	7.90

9.3 Specificity

The cross-reactivity was calculated by deriving a ratio between dose of interfering substance to dose of thyroxine needed to displace the same amount of the conjugate.

Cross-Reactant	% Cross-Reactivity	Concentration
I-Thyroxine (T4)	100	----
d-Thyroxine	98	10 µg/dL
I-Triiodothyronine (T3)	3.0	100 µg/dL
d-Triiodothyronine	1.5	100 µg/dL
Diiodothyronine	0.01	100 µg/mL
Diiodotyrosine	0.01	100 µg/mL
Iodotyrosine	0.01	100 µg/mL
Phenytoin	N/D	40 µg/mL
Sodium Salicylate	N/D	500 µg/mL
TBG	N/D	40 µg/mL
Albumin	N/D	40 mg/mL
Phenylbutazone	N/D	10 µg/mL

9.4 Sensitivity

The fT4 EIA procedure has a sensitivity of 0.05 ng/dL. The sensitivity was ascertained by determining the variability of the 0 ng/dL serum calibrator and using the 2σ (95% certainty) statistic to calculate the minimum dose.

10 EXPECTED VALUES

A study of euthyroid adult population was undertaken to determine expected values for the fT4 EIA Test System. The mean (X) values, standard deviations (σ) and expected ranges ($\pm 2\sigma$) are presented in the table below:

Expected Values for the Free T4 ELISA (in ng/dL)

	Adult (89 specimens)	Pregnancy (31 specimens)
Mean (X)	1.40	1.50
Standard Deviation (σ)	0.30	0.37
Expected Ranges ($\pm 2\sigma$)	0.8 – 2.0	0.76 – 2.24

It is important to keep in mind that establishment of a range of values which can be expected to be found by a given method for a population of "normal" persons is dependent upon several factors: the specificity of the method, the population tested and the precision of the method in the hands of the analyst. For these reasons each laboratory should depend upon the range of expected values established by the Manufacturer only until an in-house range can be determined by the analysts using the method with a population indigenous to the area in which the laboratory is located.

11 CLINICAL SIGNIFICANCE

Alterations in the concentration of serum binding proteins will generally result in a corresponding change in total T4 concentrations while the physiologically active fT4 level remains largely unchanged in a euthyroid individual. Therefore, determination of fT4 concentration may provide a more accurate assessment of thyroid status than total T4 measurement. Elevated fT4 Concentrations are indicative of hyperthyroidism and low levels are indicative of hypothyroidism.

12 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is carried out with a complete understanding of the package insert instructions and with adherence to good laboratory practice.
2. The wash procedure is critical. Insufficient washing will result in poor precision and falsely elevated absorbance readings.
3. Serum samples demonstrating gross lipemia, gross hemolysis, or turbidity should not be used with this test.
4. For professional use only. The results obtained from the use of this kit should be used only as an adjunct to other diagnostic procedures and information available to the physician.
5. If the device fails to perform, use alternative diagnostic procedure or consult manufacturer.

13 REFERENCES/LITERATURE

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., pg. 602, 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., pg. 586. 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., Hershman, 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.

1 VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay für die quantitative Bestimmung der Freien Thyroxin-Konzentration (fT4) in humanem Serum.

2 TESTPRINZIP

Der Free Thyroxine (FT4) ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf dem Prinzip der kompetitiven Bindung basiert.

3 REAGENZIEN

3.1 Im Kit enthalten

1. **Coated Microplate:** beschichtete Mikrotiterplatte, 96 Vertiefungen
2. **Enzyme Conjugate:** 1 Fläschchen mit T4-Enzymkonjugat. 10,5 mL. Gebrauchsfertig
3. **Standards:** 6 Fläschchen
1,0 mL / Fläschchen, gebrauchsfertig; Konzentrationen* ungefähr: 0 – 0,4 – 1,1 – 2,2 – 4,1 – 8,0 ng/dL
**Die Chargen-abhängigen Konzentrationen stehen auf dem Fläschchenetikett.*
Umrechnung in SI-Einheiten: 1 ng/dL x 12,9 = pmol/L
4. **Color Reagent A:** Eine Flasche Substrat A, 13 mL
5. **Color Reagent B:** Eine Flasche Substrat B, 13 mL
6. **Stop Solution:** Eine Flasche Stopplösung, (3N HCl), 10 mL

3.2 Benötigte Materialien die nicht im Kit enthalten sind

- Präzisions-Pipetten: 50 µL, 20 µL - 200 µL und 200 µL – 1,0 mL; Einmal-Pipettenspitzen
- Mikrotiterplatten-Lesegerät (450 nm Wellenlänge)
- Deionisiertes Wasser
- Gefäße zum Mischen der Substratlösungen A und B
- Saugpapier oder Papierhandtuch
- Laborwecker
- Qualitätskontrollmaterial

4 PROBEN

Blut durch Venenpunktion entnehmen, gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Für diesen Test sollten nur Serumproben ohne Zusätze verwendet werden.

Serumproben können bei 2 °C - 8 °C für maximal 48 Stunden gelagert werden. Tiefgefroren bei -20 °C ist eine Lagerung für bis zu 30 Tagen möglich.

5 AUFBEWAHRUNG DER REAGENZIEN

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C - 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C - 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C - 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden. Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits ihre Reaktivität bis zum angegebenen Verfallsdatum

6 VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Herstellung der **gebrauchsfertigen Substratlösung:**

Mischen Sie zu gleichen Teilen Substrat A und Substrat B bis zu 60 Minuten vor der Durchführung des Assays.

Z.B. für ein 8-Well Streifen benötigen Sie 1 mL Substrat A und 1 mL Substrat B. Mischen Sie die Lösung gründlich.

Die gebrauchsfertige Lösung ist im Dunkeln bei Raumtemperatur 3 Stunden haltbar.

Verwerfen Sie evtl. anfallende Reste.

7 TESTDURCHFÜHRUNG

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.

1. Die benötigte Anzahl an Wells in der Halterung befestigen.
2. 50 µL Standards, Kontrollen und Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren.
3. 100 µL gebrauchsfertiges Enzymkonjugat in alle Vertiefungen geben.
4. Ca. 20-30 Sekunden gründlich mischen. **Eine vollständige Vermischung der Reagenzien ist sehr wichtig!**
5. 60 Minuten bei Raumtemperatur (18 °C – 25 °C) inkubieren.
6. Inkubationslösung zügig abschütten. Vertiefungen 5-mal mit deionisiertem Wasser, ca. 300 µL pro Well, waschen. Nach dem letzten Waschen Wassertropfen aus den Vertiefungen durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen. (Bitte kein Leitungswasser verwenden!)
7. 200µl Substratlösung in alle Vertiefungen geben. (Siehe Kap.6) Vorsichtig für 10 Sekunden mischen.
8. 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
9. Die Reaktion durch Zugabe von 50 µL Stopplösung stoppen.
10. 30 Sek. vorsichtig mischen. **Es ist wichtig, dass der Farbumschlag von Blau zu Gelb vollständig erfolgt.**
11. Die Extinktion bei 450 nm mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von 30 Min. bestimmen.

8 BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die FT4-Konzentration der Proben wird wie folgt berechnet:

Eine Standardkurve wird erstellt, indem man die durchschnittlich Extinktion (y) der Referenzstandards gegen die entsprechende Konzentration in ng/dL (x) auf linearem Millimeterpapier aufträgt.

Die FT4-Konzentration der Patientenprobe kann nun durch Interpolation aus dieser Standardkurve ermittelt werden. Falls vorhanden, kann die Berechnung der Daten mit entsprechender Software per Computer erfolgen.

8.1 Beispielhafte Standardkurve

Die folgenden Daten dienen ausschließlich zur Demonstration und können keinesfalls zur Auswertung von Testergebnissen verwendet werden.

FT4 (ng/dL)	Optische Dichte (450 nm)
0	2,797
0,45	2,465
1,2	1,582
2,2	0,934
4,5	0,487
7,2	0,320

9 TEST-CHARAKTERISITKA

Sensitivität

Die kleinste mit dem FT4 ELISA nachweisbare FT4-Konzentration beträgt 0,05 ng/dL.

Weitere Daten entnehmen sie bitte der ausführlichen englischen Gebrauchsanweisung.

10 ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen normalen und abnormalen Werte ermittelt.

	Erwachsene, n = 89 (ng/dL)	Schwangere, n = 31 (ng/dL)
Mittelwert (X)	1,4	1,5
Standardabweichung (S.D.)	0,30	0,37
Erwarteter Bereich (± 2 S.D.)	0,8 – 2,0	0,76 – 2,24

11 KLINISCHE RELEVANZ

Informationen hierzu entnehmen sie bitte der ausführlichen englischen Gebrauchsanweisung.

12 GRENZEN DES TESTS

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikationen dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

1. Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten.
2. Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrittes!
3. Lipämische, ikterische und/oder stark hämolysierte Proben sollten nicht verwendet werden.
4. Nur für den professionelle Gebrauch. Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.
5. Wenn das Testsystem nicht funktioniert, wenden Sie ein alternatives Diagnostikverfahren an oder wenden Sie sich an den Hersteller.

13 REFERENZEN / LITERATUR

Literaturangaben entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Gebrauchsanweisung.

1 INTRODUZIONE

1.1 Applicabilità

Per la determinazione quantitativa di tiroxina libera (FT4) nel siero umano.

1.2 Introduzione

Tiroxina, un ormone tiroidale, circola nel sangue quasi completamente legato a proteine trasportatori. La più importante proteina tra queste è la globulina tiroxina-legante (TBG). Soltanto la parte non legata (libera) della triiodotironina sembra essere biologicamente attiva. Inoltre, le concentrazioni delle proteine trasportatrici possono variare a seconda della condizione clinica del paziente, per esempio durante la gravidanza. In uno stato di normale funzionalità tiroidale la concentrazione totale della tiroxina rimane costante, anche se la concentrazione delle proteine carrier varia. Perciò la determinazione della tiroxina libera rispecchia più accuratamente lo stato clinico.

Per esempio, l'aumento dei livelli della tiroxina totale legato alla gravidanza o alla terapia contraccettiva orale o di estrogeni porta a valori alzati della T4 totale, mentre la concentrazione della T3 libera rimane praticamente inalterata.

La metodologia a base di un immunoassay enzimatico su micropiastre garantisce una diretta determinazione di T4 libera con un'ottima sensibilità e un minimo a manipolazioni tecniche da parte dell'operatore.

2 PRINCIPIO DEL TEST

Il FT4 test è un immunoassay enzimatico competitivo in fase solida. Campioni di siero, standard e il coniugato enzimatico T4 sono mescolati in pozzetti ricoperti con l'anticorpo monoclonale T4. FT4 nel siero dei pazienti e il coniugato competono per i siti di legame dell'anticorpo. Dopo 60 minuti di incubazione a temperatura ambiente i pozzetti sono lavati con acqua per rimuovere il coniugato T4 non legato. Una soluzione di H₂O₂ /TMB (benzidine tetrametilico) viene aggiunto e incubato per 20 minuti. Il risultato è lo sviluppo di un colore blu. La reazione è fermata dall'aggiunta di 3 N HCL e l'assorbanza è misurata spettrofotometricamente a 450 nm. L'intensità del colore è direttamente proporzionale alla concentrazione di enzima presente e inversamente correlata alla quantità di FT4 libero nel campione. Tramite una serie di FT4 standard testati insieme ai campioni, la concentrazione ignota di FT4 nei campioni può essere calcolata.

3 REAGENTI

3.1 Materiali contenuti nel kit:

1. **Coated Microplate:** Micropozzetti a 96 pozzetti ricoperti con anticorpi
2. **Enzyme Conjugate:** Un (1) flacone con coniugato enzimatico T4; 10.5 mL, pronto all'uso
3. **Standard:** Sei (6) flaconi con standard, 1.0 mL / flacone, pronto all'uso; Concentrazioni* circa: 0 – 0,4 – 1,1 – 2,2 – 4,1 – 8,0 ng/dL
** Le concentrazioni dipendenti dal lotto sono riportate sulle etichette dei flaconi.*
Per unità SI: 1 ng/dL x 12,9 = pmol/L
4. **Color Reagent A:** Un (1) flacone di substrato A, 13 mL
5. **Color Reagent B:** Un (1) flacone di substrato B, 13 mL
6. **Stop Solution:** Un (1) flacone di soluzione d'arresto, 3 N HCl, 10 mL

3.2 Materiali richiesti ma non contenuti nel kit:

- Pipette a precisione: 50 µL, 20 µL - 200 µL und 200 µL – 1,0 mL
- Spettrofotometro per micropozzetti (450 nm lunghezza d'onda)
- Sciacquatore per micropozzetti
- Acqua deionizzata
- Contenitori per mescolare le soluzioni substrato A e B.
- Agitatore vortex
- Materiale per il controllo qualità

4 COLLEZIONE DEI CAMPIONI

Prelevare il sangue tramite puntura venale, lasciare coagulare e separare il siero centrifugando il campione a temperatura ambiente. Per questo test dovrebbero essere utilizzati sieri senza aggiunte.

Campioni di sieri possono essere magazzinati per 48 ore a 2 °C - 8 °C. Per un magazzinaggio fino a 30 giorni i campioni dovrebbero essere congelati a -20 °C.

5 MAGAZZINAGGIO DEI REAGENTI

Test kits non aperti dovrebbero essere magazzinati a 2 °C - 8 °C. La data di scadenza è indicata sull'etichetta del kit.

A 2 °C - 8 °C i reagenti non aperti rimangono reattivi fino alla data di scadenza indicata. Non usare reagenti oltre questa data.

Tutti i reagenti aperti devono essere magazzinati a 2 °C - 8 °C. I micropozzetti devono essere magazzinati a 2 °C - 8 °C. Una volta aperti i pacchi, questi devono essere richiusi accuratamente.

6 PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Preparazione della **soluzione substrato**:

Mescolare parti uguali di substrato A e substrato B fino a 15 minuti prima dell'attuazione del test.

Per una colonna di 8 pozzetti si necessitano 1 mL di substrato A e 1 mL di substrato B. Mescolare accuratamente la soluzione. La soluzione pronta all'uso si mantiene per 3 ore al buio.

Soluzioni avanzate devono essere eliminate.

7 ATTUAZIONE DEL TEST

Tutti i reagenti e i campioni devono essere portati a temperatura ambiente e ben mescolati prima dell'uso.

1. Posizionare il numero necessario di pozzetti nell'apposito supporto.
2. Pipettare 50 µL degli standard, dei controlli e dei campioni in ciascun pozzetto.
3. Aggiungere 100 µL coniugato enzimatico pronto all'uso in ogni pozzetto.
4. Mescolare agitando per 20-30 secondi. **Un completo mescolamento dei reagenti è molto importante!**
5. Incubare per 60 minuti a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C).
6. Vuotare i pozzetti capovolgendoli. Lavare i pozzetti 5 volte con acqua deionizzata, ca. 300 µL per pozzetto. Dopo l'ultimo lavaggio rimuovere le rimanenti gocce d'acqua scuotendo i pozzetti contro la carta assorbente. (non utilizzare acqua del rubinetto!)
7. Aggiungere 200 µL soluzione substrato in ogni pozzetto.
8. Coprire e incubare al buio a temperatura ambiente per 20 minuti.
9. Terminare la reazione con l'aggiunta di 50 µL della soluzione d'arresto.
10. Mescolare cautamente per 30 secondi. **È importante che il colore blu vira completamente al giallo.**
11. Determinare l'estinzione a 450 nm con un lettore di micropozzetti entro 30 min.

8 CALCOLO DEI RISULTATI

La concentrazione di FT4 viene calcolata come segue:

Si costruisce una curva standard con le medie della estinzione in ordinata (y) degli standard e delle rispettive concentrazioni in ng/dL sull'ascisse (x).

La concentrazione di FT4 dei campioni può essere determinata per interpolazione con la curva standard. Il calcolo può essere eseguito anche al calcolatore.

8.1 Curva standard esemplare

I seguenti dati servono esclusivamente per la dimostrazione e non possono essere utilizzati in alcun caso per l'analisi dei risultati.

FT4 (ng/dL)	Assorbanza (450 nm)
0	2,797
0,45	2,465
1,2	1,582
2,2	0,934
4,5	0,487
7,2	0,320

9 CARATTERISTICHE DEL TEST**Sensitività**

La concentrazione minima rilevabile con il test FT4 ELISA è 0,05 pg/mL.

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

10 VALORI NORMALI

È consigliabile che ogni laboratorio determini i propri valori normali e anormali.

	Adulti, n =89 (ng/dL)	Donne gravide, n = 31 (ng/dL)
Valori medi (X)	1,40	1,50
Deviazione standard (S.D.)	0,30	0,37
Intervallo previsto (± 2 S.D.)	0,8 – 2,0	0,76 – 2,24

11 RILEVANZA CLINICA

Per ulteriori informazioni, fare riferimento alle dettagliate istruzioni per l'uso in inglese.

12 LIMITAZIONE DEL TEST

Ogni manutenzione impropria dei campioni o modificazione del protocollo può influenzare i risultati.

1. Il test deve essere eseguito esattamente secondo il protocollo dato dal produttore. Inoltre l'utente deve seguire le regole del GLP (Good Laboratory Practice) o eventualmente altre regole comportamentali o disposizioni legali.
2. Il lavaggio è un passaggio critico. Lavaggio insufficiente o la mancata rimozione d'acqua dopo i lavaggi porta a una precisione minore e a estinzioni falsamente alti.
3. Non usare campioni emolitici, itterici o lipemici.
4. Solo per uso professionale. Il risultato del test da solo non è base sufficiente per lo stabilimento di una terapia.
5. Se il sistema di test non funziona, utilizzare una procedura diagnostica alternativa o contattare il produttore.

13 RIFERIMENTI / BIBLIOGRAFIA

Per riferimenti bibliografici, consultare le istruzioni per l'uso dettagliate in inglese.

Uso exclusivo para diagnóstico in vitro

Conservar entre 2 °C y 8 °C.

1 USO PREVISTO

Determinación cuantitativa de la concentración de tiroxina libre (fT4) en suero humano.

1.1 Introducción

La LI-tiroxina (T4) o 3,5,3',5'-tetrayodotironina es la hormona tiroidea más frecuentemente analizada para el diagnóstico de la función tiroidea. La principal influencia de la T4 se produce sobre la síntesis de proteínas y el consumo de oxígeno en prácticamente todos los tejidos, pero también es importante para el crecimiento, el desarrollo y la maduración sexual.

La glándula tiroides sintetiza la T4 y la secreta al torrente sanguíneo. Ahí es donde la T4 se fija a las proteínas del suero para su transporte hasta las células. La principal proteína transportadora es la globulina fijadora de tiroxina (TBG, por sus siglas en inglés), que normalmente representa el 80% de la T4 fijada. Otras proteínas fijadoras de hormona tiroidea son la prealbúmina fijadora de tiroxina y la albúmina. La mayoría de la T4 sérica se fija a estas proteínas transportadoras y deja únicamente un 0,03% libre que produce un efecto sobre las células. Esta T4 libre (fT4) es la que representa la fracción metabólicamente activa. Por este motivo, el análisis de la concentración de la fT4 se considera un indicador del estado de la tiroides del paciente.

El hipotiroidismo primario conlleva una deficiencia en la producción de la T4 por parte de la glándula tiroides y, por consiguiente, una concentración anormalmente baja de fT4 que circula en sangre. El hipertiroidismo primario provoca una producción excesiva de la T4 en la tiroides y, por consiguiente, una concentración elevada de fT4.

Las concentraciones séricas totales de T4 dependen del nivel de TBG que circula en sangre, así como el estado de la tiroides del paciente. La concentración de TBG puede verse afectada por ciertos fármacos, hormonas esteroideas, el embarazo y por diversas enfermedades no tiroideas. En una generación anterior de pruebas sobre la función tiroidea, el efecto de la concentración variable de TBG se averiguaba mediante el cálculo del índice de tiroxina libre (FTI, por sus siglas en inglés). Este FTI es el producto de la concentración total de T4 y la captación tiroidea (TU, por sus siglas en inglés), que evalúa el número de lugares de unión disponibles en la TBG. Este enfoque requiere llevar a cabo dos determinaciones de ensayo independientes (T4 total y TU), pero ofrece un mejor indicador del estado del tiroides que la T4 total por sí misma.

Las pruebas de fT4 están diseñadas para que reflejen directamente el equilibrio existente en el suero entre la T4 y la T4 fijada a la TGB. Estos métodos, incluyendo la presente prueba de fT4, por lo general pueden plasmar el estado de la tiroides en un único ensayo.

2 PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba de la fT4 constituye un inmunoensayo enzimático competitivo de fase sólida. Las muestras de suero de los pacientes, los estándares y el reactivo que actúa en el conjugado enzimático de tiroxina se añaden a los pocillos revestidos con anticuerpo monoclonal de T4. La fT4 de la muestra del paciente y el conjugado etiquetado de T4 compiten por los lugares de unión disponibles en el anticuerpo. Tras una incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, se lavan los pocillos con agua para eliminar el conjugado de T4 no fijado. A continuación se añade una solución de H₂O₂/TMB y se incuba durante 20 minutos, lo que provoca que aparezca una coloración azul. La aparición de la coloración se detiene al añadir HCl 3N y se mide la absorbencia mediante espectrofotometría a 450 nm. La intensidad de la coloración desarrollada es proporcional a la cantidad de enzima presente y se relaciona inversamente con la cantidad de fT4 no identificada de la muestra. En relación con una serie de estándares de fT4 analizados del mismo modo, la concentración de fT4 en la muestra desconocida se cuantifica.

3 REACTIVOS

3.1 Materiales suministrados con el kit

1. **Antibody Coated Microplate,**
Microplaca revestida de anticuerpos (1 placa, 96 pocillos)
Micropocillos revestidos con Anti-T4
2. **Enzyme Conjugate,**
Reactivo de conjugado enzimático de fT4, listo para su uso (1 vial, 10,5 mL)
Contiene anticuerpos de T4 conjugados a peroxidasa de rábano con conservantes
3. Reference **Standard Set,** (1,0 mL/vial)
Seis viales de referencia sérica para la fT4 en concentraciones aproximadas* de 0 - 0,4 - 1,1 - 2,2 - 4,1 - 8,0 ng/dL.
Se ha añadido un conservante; líquido, listo para su uso.
** En las etiquetas se proporcionan los niveles exactos conforme al lote específico*
Para las unidades del SI: 1 ng/dL x 12,9 = pmol/L
4. **Color Reagent A** (Reactivo de color A) (1 botella, 13 mL)
Contiene peróxido de hidrógeno en solución tampón de acetato
5. **Color Reagent B** (Reactivo de color B) (1 botella, 13 mL)
Contiene 3, 3', 5, 5' tetrametilbenzidina (TMB) estabilizada en solución tampón.
6. Solución de parada (HCl 3N) (1 botella, 10 mL)
Contiene ácido clorhídrico diluido

3.2 Materiales necesarios pero no proporcionados:

- Pipeta capaz de distribuir volúmenes de 50 µL con una precisión superior al 1,5%.
- Dosificador(es) para suministrar de forma repetitiva volúmenes de 0,050 mL y 0,200 mL con una precisión superior al 1,5%.
- Lector de microplacas con una capacidad de absorbencia de longitud de onda de 450 nm.
- Tubos de prueba para mezclar el Reactivo de color A con el Reactivo de color B.
- Papel absorbente para secar los pocillos de la microplaca.
- Cronómetro.
- Sueros de control para el control de calidad.

4 RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El suero debe prepararse a partir de una muestra de sangre completa obtenida mediante técnicas médicas aceptables. Este kit únicamente debe usarse con muestras de suero sin aditivos.

Las muestras de suero se pueden refrigerar a una temperatura entre 2 °C - 8 °C durante un tiempo máximo de 48 horas. Si las muestras no se pueden analizar en 48 horas, se podrán almacenar a una temperatura de -20 °C durante un periodo de hasta 30 días.

5 ALMACENAMIENTO DEL KIT Y EL INSTRUMENTAL DE LA PRUEBA

Los kits de pruebas sin abrir pueden almacenarse a temperaturas de entre 2 °C - 8 °C tras recibirse y la placa de micropocillos se debe conservar en una bolsa sellada con desecantes para reducir la exposición al aire húmedo.

Los kits de pruebas abiertos permanecerán estables hasta la fecha de caducidad que se muestra, siempre y cuando se almacenen tal y como se ha descrito anteriormente.

Para la medición de la absorbencia, se aceptará un lector de placa de micropocillos con un ancho de banda de 10 nm o inferior y un rango de densidad óptica de 0 - 2,0 DO o superior con una longitud de onda de 450 nm.

6 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Solución de trabajo de sustrato: preparar inmediatamente antes de su uso.

Para preparar una solución de H₂O₂/TMB, realice una mezcla 1:1 del Reactivo de color A con el Reactivo de color B hasta 1 hora antes de su uso. Mezcle con cuidado para asegurar una mezcla homogénea.

La preparación del reactivo de H₂O₂/TMB debe realizarse como mínimo 15 minutos antes de su uso y es estable a temperatura ambiente en la oscuridad durante un periodo de hasta 3 horas. Deseche los excesos tras su uso.

7 PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Antes de proceder con el ensayo, haga que todos los reactivos, referencias de suero y controles alcancen la temperatura ambiente (entre 18 °C - 25 °C).

1. Organice los pocillos de las microplacas para que cada referencia de suero, control y muestra del paciente se analicen por duplicado.
2. Pipetee 0,050 mL (50 µL) de la referencia de suero adecuada, del control y de la muestra en el pocillo asignado.
3. Añada 0,100 mL (100 µL) del reactivo del conjugado enzimático de fT4 a todos los pocillos.
4. Gire suavemente la microplaca durante 20-30 segundos para que se mezcle.
5. Incube durante 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire la mezcla de la incubación vaciando los contenidos de la placa en un contenedor de desechos. Aclare y vacíe la placa de micropocillos **5 veces con agua desionizada**. Golpee con fuerza la placa de micropocillos sobre un papel absorbente o toallitas de papel para eliminar todas las gotas de agua residuales.
7. Añada 0,200 mL (200 µL) de **solución de trabajo de sustrato** a todos los pocillos (consulte el apartado de Preparación de los reactivos). **Añada siempre los reactivos en el mismo orden para reducir las diferencias de tiempo de reacción entre los pocillos**. Mezcle con cuidado durante 10 segundos.
8. Incube a temperatura ambiente en la oscuridad durante 20 minutos.
9. Detenga la reacción añadiendo 0,050 mL (50 µL) de HCl 3N (solución de parada) a cada pocillo.
10. Mezcle con cuidado durante 30 segundos. **Es importante asegurarse de que toda la coloración azul cambia por completo a amarillo**.
11. Lea la absorbencia a 450 nm con un lector de micropocillos en un plazo de 30 minutos.

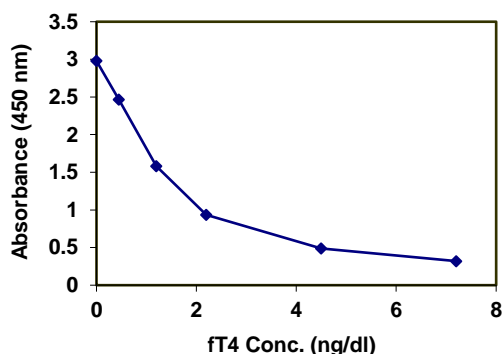
8 CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

1. Calcule el valor medio de la absorbencia (A_{450}) para cada conjunto de estándares de referencia, controles y muestras del paciente.
2. Elabore una curva estándar trazando la absorbencia media obtenida para cada estándar de referencia frente a su concentración en ng/dL en papel cuadrulado, con los valores de absorbencia en el eje vertical o Y, y las concentraciones en el eje horizontal o X.
3. Utilice los valores medios de absorbencia de cada muestra para determinar la concentración correspondiente de fT4 en ng/dL a partir de la curva estándar.

8.1 Ejemplo de curva estándar

Resultados de una serie típica estándar con lecturas de densidad óptica a 450 nm mostrados en el eje Y frente a las concentraciones de fT4 mostradas en el eje X. Esta curva estándar únicamente tiene fines ilustrativos y no debe utilizarse para calcular valores desconocidos. Cada usuario debe obtener sus propios datos y curva estándar en cada experimento.

fT4 (ng/dL)	Absorbencia (450 nm)
0	2,797
0,45	2,465
1,2	1,582
2,2	0,934
4,5	0,487
7,2	0,320



9 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

9.1 Exactitud

El sistema de prueba mediante inmunoensayo enzimático (EIA) de microplaca de la FT4 se comparó con un método de radioinmunoensayo con tubo revestido. Se utilizaron muestras biológicas de poblaciones con hipotiroidismo, eutiroidismo e hipertiroidismo (valores que oscilaban entre 0,1 ng/dL - 8 ng/dL). El número total de dichas muestras ascendió a 166. Se calcularon la ecuación por regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación para el presente sistema de prueba de EIA de la FT4 en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Método	Media (X)	Análisis por regresión de mínimos cuadrados	Coefficiente
El presente método	1,60	$y = 0,9513(x) + 0,0582$	0,9597
Referencia	1,64		

La proximidad de los valores medios indica únicamente cierto sesgo entre el presente método y el método de referencia. La ecuación por regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación indica una excelente concordancia entre los métodos.

9.2 Precisión

La precisión intra- e interensayo del sistema de prueba mediante inmunoensayo enzimático de microplaca de la FT4 se determinaron mediante análisis en tres niveles distintos del grupo de suero de control. El número, los valores medios, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada uno de estos sueros de control se muestran en las siguientes tablas:

Precisión intraensayo (valores en ng/dL)

	Bajo	Medium	Alto
(n)	20	20	20
X	0,550	1,740	3,250
1 D.E.	0,061	0,074	0,106
% de C.V.	10,98	4,26	3,25

Precisión interensayo (valores en ng/dL)*

	Bajo	Medium	Alto
(n)	10	10	10
X	0,480	1,410	3,490
1 D.E.	0,052	0,085	0,279
% de C.V.	10,81	6,01	7,90

9.3 Especificidad

La reactividad cruzada se calculó al obtener un cociente entre la dosis de la sustancia interferente respecto a la dosis de tiroxina necesaria para desplazar la misma cantidad del conjugado.

Reactivo cruzado	% de reactividad cruzada	Concentración
L-tiroxina (T4)	100	----
d-tiroxina	98	10 µg/dL
l-triyodotironina (T3)	3,0	100 µg/dL
d-triyodotironina	1,5	100 µg/dL
Diyodotironina	0,01	100 µg/mL
Diyodotirosina	0,01	100 µg/mL
Yodotirosina	0,01	100 µg/mL
Fenitoína	Sin datos	40 µg/mL
Salicilato de sodio	Sin datos	500 µg/mL
TBG	Sin datos	40 µg/mL
Albúmina	Sin datos	40 mg/mL
Fenilbutazona	Sin datos	10 µg/mL

9.4 Sensibilidad

El procedimiento de EIA de la FT4 presenta una sensibilidad de 0,05 ng/dL. La sensibilidad se determinó al establecer la variabilidad del calibrador de suero de 0 ng/dL y al utilizar las 2σ (95% de fiabilidad) estadísticas para calcular la dosis mínima.

10 VALORES ESPERADOS

Se llevó a cabo un estudio de la población adulta con eutiroidismo para determinar los valores esperados para el sistema de prueba de EIA de la FT4. Los valores medios (X), las desviaciones estándar (σ) y los intervalos esperados ($\pm 2\sigma$) se muestran en la siguiente tabla:

Valores esperados para el ELISA de T4 libre (en ng/dL)

	Adulto (89 muestras)	Embarazo (31 muestras)
Media (X)	1,40	1,50
Desviación estándar (σ)	0,30	0,37
Intervalos esperados ($\pm 2\sigma$)	0,8 – 2,0	0,76 – 2,24

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de un intervalo de valores que caben esperar de un método concreto para una población de personas «normales» depende de varios factores: la especificidad del método, la población analizada y la precisión del método en las manos del analista. Por estos motivos, cada laboratorio debe depender del intervalo de valores esperados establecidos por el fabricante solo hasta que los analistas puedan determinar un intervalo interno mediante el método con una población autóctona de la zona en la que se encuentra el laboratorio.

11 SIGNIFICADO CLÍNICO

Las alteraciones en las concentraciones de las proteínas de fijación del suero por lo general conllevarán una correspondiente modificación de las concentraciones totales de T4, mientras que el nivel fisiológicamente activo de la FT4 permanecerá en su mayor parte inalterado en una persona con eutiroidismo. Por lo tanto, la determinación de la concentración de FT4 puede ofrecer una evaluación más precisa del estado de la tiroides que el análisis total de la T4. Las concentraciones elevadas de FT4 indican hipertiroidismo y los niveles bajos son un signo de hipotiroidismo.








12 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Se obtendrán resultados fiables y reproducibles cuando el procedimiento del ensayo se lleve a cabo con un conocimiento total de las instrucciones del prospecto del envase y cumpliendo las buenas prácticas de laboratorio.
2. El procedimiento de lavado resulta fundamental. Un lavado insuficiente conllevará una baja precisión y lecturas de absorbencia que aparezcan erróneamente como elevadas.
3. Las muestras de suero que muestren lipemia intensa, hemólisis intensa o turbidez no deben usarse con esta prueba.
4. Solo para uso profesional. Los resultados obtenidos con este kit únicamente deben usarse como apoyo a otros procedimientos de diagnóstico e información disponible para el médico.
5. Si el sistema de prueba no funciona, utilice un procedimiento de diagnóstico alternativo o póngase en contacto con el fabricante.

13 BIBLIOGRAFÍA / LITERATURA

Por favor, consulte las instrucciones de uso detalladas en inglés para obtener referencias bibliográficas.

SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use *	Gebrauchsanweisung beachten *	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
IVD	<i>In vitro</i> diagnostic medical device *	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum *	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico In vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
REF	Catalogue number *	Artikelnummer *	Numero di Catalogo	Número de catálogo	Référence de catalogue
LOT	Batch code *	Chargencode *	Codice del lotto	Codigo de lote	Numéro de lot
	Contains sufficient for <n> tests *	Ausreichend für <n> Prüfungen *	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit *	Temperaturbegrenzung *	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date *	Verwendbar bis *	Utilizzare prima del	Establa hasta	Utiliser jusque
	Manufacturer *	Hersteller *	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Caution *	Achtung *			
RUO	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertreiber	Distributore	Distribuidor	Distributeur
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Contenu
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité

(07-Sep-2022_ia)