

IMMULITE®

TNF α

For use on the IMMULITE®
and IMMULITE® 1000 systems

DPC®

IMMULITE®/IMMULITE® 1000 TNF α

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of Tumor Necrosis Factor α (TNF α) in serum or heparinized plasma, as an aid in the clinical assessment of various immunological diseases.

Catalog Number: **LKNFZ** (50 tests),
LKNF1 (100 tests)

Test Code: **TNA** Color: **Orange**

Summary and Explanation

Tumor necrosis factor α (cachectin) and tumor necrosis factor β (lymphotoxin) are two closely related proteins which share sequence homology of 34% in their amino acid sequence. Both mediators act on their target cells via the same receptors and therefore show similar, but not identical, biological effects.

Under denaturing conditions TNF α is a 17 kDa, non-glycosylated protein. The biologically active form of TNF α is a trimer. Besides this soluble form of TNF α , a 28 kDa membrane-bound form occurs on cell surfaces of TNF-producing cells which may serve as a pool for soluble TNF α and can be proteolytically cleaved from the cell surface.

Different cells are shown to produce TNF α : for example, macrophages, CD4⁺ T cells and NK cells after stimulation with lipopolysaccharides. Additionally, smooth muscle cells, polymorphonuclear neutrophils, astrocytes and a variety of tumor cell lines can produce TNF α .

TNF α acts via two distinct cell surface receptors which are called TNF Receptor I (p55) and TNF Receptor II (p75). These receptors can be identified on virtually all cell types except erythrocytes. Besides the cell-bound forms of the TNF receptors, soluble forms are known which are capable of TNF α binding. They therefore, compete with the cell-bound forms and can inhibit the effects of TNF α .

Due to the occurrence of TNF α receptors on nearly all cells, TNF α shows a wide variety of biological actions. It has cytolytic and cytostatic effects on tumor cells and shows chemotactic activity on neutrophils. TNF α is a growth factor for fibroblasts and stimulates the synthesis of collagenase and prostaglandin E₂ bone resorption can be induced by TNF α because it activates osteoclasts. TNF α enhances the proliferation of T cells after stimulation with IL-2. In the absence of IL-2, TNF α induces the proliferation and differentiation of beta cells.

TNF α serum or plasma levels may be elevated in sepsis, autoimmune diseases, various infectious diseases and transplant rejection.

Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 TNF α is a solid-phase, chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes.

Specimen Collection

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE/IMMULITE 1000 TNF α has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on

Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 100 μ L serum or heparinized plasma. (Sample cup must contain at least 250 μ L more than the total volume required.)

Storage: 2 days at 2–8°C or 6 months at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

TNF α Test Units (LNF1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with a murine monoclonal anti-TNF α antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

LKNFZ: 50 units. **LKNF1:** 100 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

TNF α Reagent Wedge (LNF2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to a rabbit polyclonal anti-TNF α antibody in buffer, with preservative.

Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date.

Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

LKNFZ: 1 wedge. **LKNF1:** 2 wedges.

TNF α Adjustors (LNFL, LNFH)

Two vials (Low and High) of lyophilized TNF α in a nonhuman serum/buffer matrix, with preservative. Reconstitute each vial with 3.0 mL distilled or deionized water.

Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved.

Aliquot and freeze within 3 hours of reconstitution. Stable at –20°C for 6 months after reconstitution.

LKNFZ: 1 set. **LKNF1:** 1 set.

Kit Components Supplied Separately

TNF α Sample Diluent (LNFZ)

For the manual dilution of patient samples.

One vial (25 mL) containing a TNF α -free nonhuman serum/buffer matrix. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LSUBX: Chemiluminescent Substrate

LPWS2: Probe Wash Module

LKPM: Probe Cleaning Kit

LCHx-y: Sample Cup Holders (barcoded)

LSCP: Sample Cups (disposable)

LSCC: Sample Cup Caps (optional)

LILCM: IMMULITE Cytokine Control Module (bi-level, human serum-based).

Also Required

Sample transfer pipets, distilled or deionized water, controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

Each Sample cup holder can be followed by up to four test units.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of TNF α .

Expected Values

Samples from a total of 58 healthy individuals were assayed by the IMMULITE TNF α procedure. The absolute range of these samples was from nondetectable to 8.1 pg/mL.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitation

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in pg/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: Up to 1,000 pg/mL (NIBSC 87/650)

Analytical Sensitivity: 1.7 pg/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 100,000 pg/mL.

Intraassay Precision (Within-Run):
Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

Interassay Precision (Run-to-Run):
Statistics were calculated for samples assayed in 20 different runs. (See "Interassay Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three TNF α solutions (242, 592 and 988 pg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for TNF α . (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 382 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: Samples (n=10) were collected into plain and heparinized vacutainer tubes.

(Heparin) = 0.94 (Serum) + 10 pg/mL
r = 0.997

Means:
400 pg/mL (Serum)
341 pg/mL (Heparin)

Method Comparison: The assay was compared to the Milenia TNF α assay on 64 patient samples (Concentration range: approximately 28 to 947 pg/mL. See graph.) By linear regression:

(IML) = 0.81 (Milenia) + 40 pg/mL
r = 0.971

Means:
345 pg/mL (IMMULITE)
378 pg/mL (Milenia)

References

- 1) Jacob CO. Tumor necrosis factor α in autoimmunity: pretty girl or old witch? Immunol Today 1992;13:122-5.
- 2) Marano MA, Fong Y, Moldawer LL, Wei H, Calvano SE, Tracey KJ, Barie PS, Manogue K, Cerami A, Shires GT, Lowry SF. Serum cachectin/tumor necrosis factor in critically ill patients with burns correlates with infection and mortality. Surg Gynecol Obstet 1990;170:32-8.
- 3) Maury CPJ,

Teppo AM. Raised serum levels of cachectin/ tumor necrosis factor α in renal allograft rejection. *J Exp Med* 1987;166:1132-7. 4) Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, Stephens S, MacDonald TT. Tumor necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet* 1992;339:89-91. 5) Herbelin A, Nguyen AT, Zingraff J, Urena P, Descamps-Latscha B. Influence of uremia and hemodialysis on circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor α . *Kidney Int* 1990;37:116-25. 6) Buck C, Gallati H, Pohlandt F, Bartmann P. Increased levels of tumor necrosis factor α (TNF α) and interleukin 1 β (IL-1 β) in tracheal aspirates of newborns with pneumonia. *Infection* 1994;22:238-41. 7) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998.

Technical Assistance

Available outside the United States only. For technical assistance, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Intraassay Precision (pg/mL)

| | Mean ¹ | SD ² | CV ³ |
|---|-------------------|-----------------|-----------------|
| 1 | 34 | 1.2 | 3.5% |
| 2 | 327 | 8.6 | 2.6% |
| 3 | 800 | 29 | 3.6% |

Interassay Precision (pg/mL)

| | Mean ¹ | SD ² | CV ³ |
|---|-------------------|-----------------|-----------------|
| 1 | 17 | 1.1 | 6.5% |
| 2 | 33 | 1.9 | 5.8% |
| 3 | 66 | 3.5 | 5.3% |
| 4 | 160 | 8.4 | 5.3% |
| 5 | 322 | 13 | 4.0% |
| 6 | 788 | 35 | 4.4% |

Linearity (pg/mL)

| | Dilution ¹ | Observed ² | Expected ³ | %O/E ⁴ |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | 8 in 8 ⁵ | 220 | — | — |
| | 4 in 8 | 99 | 110 | 90% |
| | 2 in 8 | 50 | 55 | 91% |
| | 1 in 8 | 25 | 27 | 93% |
| 2 | 8 in 8 | 370 | — | — |
| | 4 in 8 | 180 | 185 | 97% |
| | 2 in 8 | 92 | 93 | 99% |
| | 1 in 8 | 49 | 46 | 106% |
| 3 | 8 in 8 | 571 | — | — |
| | 4 in 8 | 266 | 286 | 93% |
| | 2 in 8 | 151 | 143 | 106% |
| | 1 in 8 | 72 | 71 | 101% |

Recovery (pg/mL)

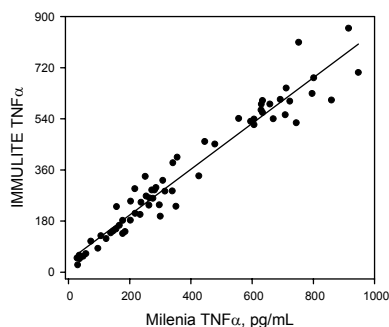
| | Solution ¹ | Observed ² | Expected ³ | %O/E ⁴ |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | — | 148 | — | — |
| | A | 148 | 153 | 97% |
| | B | 175 | 170 | 103% |
| | C | 212 | 190 | 112% |
| 2 | — | 370 | — | — |
| | A | 345 | 364 | 95% |
| | B | 380 | 381 | 100% |
| | C | 394 | 401 | 98% |
| 3 | — | 571 | — | — |
| | A | 523 | 555 | 94% |
| | B | 526 | 572 | 92% |
| | C | 568 | 592 | 96% |

Specificity

| Compound ¹ | pg/mL Added ² | Apparent pg/mL ³ | % Cross-reactivity ⁴ |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| IL-1 β | 10,000 | ND | ND |
| IL-2 | 10,000 | ND | ND |
| IL2R | 10,000 | ND | ND |
| IL-4 | 10,000 | ND | ND |
| IL-6 | 10,000 | ND | ND |
| IL-8 | 10,000 | ND | ND |
| IL-10 | 10,000 | ND | ND |
| IL-13 | 10,000 | ND | ND |

ND: not detectable.⁵

Method Comparison



$$(IML) = 0.81 (\text{Milenia}) + 40 \text{ pg/mL}$$
$$r = 0.971$$

Deutsch. Intraassay Precision: ¹Mittelwert, ²S (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** ¹Mittelwert, ²S (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet(B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Probe, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** TNFα: TNA-alpha.

Español. Intraassay Precision: ¹Media, ²DS, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Media, ²DS, ³CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. **Method Comparison:** TNFα: alfa-TNF.

Français. Intraassay Precision: ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %. ⁵ND: non détectable. **Method Comparison:** TNFα: TNF-alpha.

Italiano. Intraassay Precision: ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision:** ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. **Method Comparison:** TNFα: TNF-alpha.

Português. Intraassay Precision: ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Interassay Precision:** ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵8 em 8. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Porcentagem de reação cruzada, ⁵ND: não detectável. **Method Comparison:** TNFα: alfa-TNF.

Deutsch

TNF-α IMMULITE

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme – für die quantitative Bestimmung von TNF-α im Serum oder Heparin-Plasma, als Hilfe für die klinische Einschätzung der verschiedenen immunologischen Krankheiten.

Artikelnummern:

LKNFZ (50 Tests), **LKNF1** (100 Tests)

Testcode: **TNA** Farbe: **orange**

Klinische Relevanz

Tumor Nekrosis Faktor-α (Cachetin) und Tumor Nekrosis Faktor-β (Lymphotoxin) sind zwei nah verwandte Proteine die in ihrer Aminosäuresequenz eine Homologie von 34% zeigen. Beide Mediatoren wirken auf ihre Zielzellen mittels der selben Rezeptoren. Deshalb sind auch ähnliche, aber keine identischen, biologischen Effekte zu beobachten.

Unter denaturierenden Bedingungen ist das TNF-α ein 17 kDa großes, nicht-glykosiliertes Protein. Die biologisch aktive Form des TNF-α ist ein Trimer. Neben dieser löslichen Form des TNF-α findet sich auf der Zelloberfläche TNF-produzierender Zellen eine 28 kDa große Membran-gebundene Form des TNF-α. Diese könnte als ein Pool für das lösliche TNFα dienen und kann proteolytisch von der Zelloberfläche abgespalten werden.

Verschiedenartige Zellen zeigen die Fähigkeit zur TNF-α Produktion: z.B.: Makrophagen, CD4-Zellen und NK-Zellen nach Stimulation mit Lipopolysacchariden. Ergänzend wird TNF-α noch von glatten

Muskelzellen, polymorphnukleären Neutrophilen, Astrozyten und einer Reihe von Tumorzelllinien produziert.

TNF- α wirkt über zwei unterschiedliche Oberflächenrezeptoren: Den TNF-Rezeptor I (p55) und den TNF-Rezeptor II (p75). Diese Rezeptoren sind im wesentlichen auf allen Zellarten außer den Erythrozyten zu finden. Neben den Zellgebundenen Formen der TNF-Rezeptoren sind lösliche Formen bekannt, die das TNF- α ebenfalls binden können. Dies führt zu einer Konkurrenz mit den Zellgebundenen Formen und kann die TNF α Wirkung hemmen.

Das Vorkommen der TNF- α Rezeptoren auf nahezu allen Arten von Zellen führt zu einem breiten Spektrum von Wirkungen. Es hat zytolytische und zytostatische Effekte auf Tumorzellen sowie chemotaktische Wirkung auf Neutrophile. TNF- α ist ein Wachstumsfaktor für Fibroblasten und stimuliert die Synthese von Kollagenase und Prostaglandin E2. Durch die Aktivierung von Osteoklasten wird die Knochenresorption induziert. TNF- α verstärkt die Proliferation von T-Zellen nach Stimulation mit IL-2. In Abwesenheit von IL-2 induziert TNF- α die Proliferation und Differenzierung der B-Zellen.

TNF- α -Serum oder-Plasma-Spiegel können bei Sepsis, Autoimmunerkrankungen, verschiedenen Infektionskrankheiten und bei Transplantatabstoßungen erhöht sein.

Methodik

IMMULITE/IMMULITE 1000 TNF- α ist ein Festphasen, Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 \times 60 min.

Probengewinnung

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung

kann zu Fibringerinnungen führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnungen vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab.

IMMULITE/IMMULITE 1000 TNF- α sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 100 μ l Serum oder heparinisieretes Plasma. (Inhalt der Probenträger muss mindestens 250 μ l über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

Lagerung: 2 Tage bei 2–8°C, oder 6 Monate bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur **In-vitro**-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Aufkleber werden für den Assay benötigt.

TNF- α - Testeinheiten (LNF1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine mit monoklonalem anti-TNF- α Antikörper beschichtete Kugel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

LKNFZ: 50 Testeinheiten.

LKNF1: 100 Testeinheiten.

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Zimmertemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

TNF- α -Reagenzbehälter (LNF2)

Mit Barcode. 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes polyklonales anti-TNF- α (Hase) in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Verschlossen und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Aufbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

LKNFZ: 1 Behälter.

LKNF1: 2 Behälter.

TNF- α -Kalibratoren (LNFL, LNFH)

Zwei Fläschchen (Low und High) mit lyophilisiertem TNF- α in einer nichthumanen Serum-/Puffermatrix, mit Konservierungsmittel. Fläschchen mit je **3,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Aliquotieren und einfrieren innerhalb von 3 Stunden nach Rekonstitution. Nach Rekonstituierung 6 Monate bei –20°C haltbar.

LKNFZ: 1 Set.

LKNF1: 1 Set.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten**TNF- α Verdünnungspuffer (LNFZ)**

Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen (25 ml) mit TNF- α freier nichthumaner Serumpuffermatrix. 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C haltbar.

LSUBX: Chemilumineszenz-Substrat

LPWS2: Pipettenwaschlösung

LKPM: Pipettenreinigungsset

LCHx-y: Halterungen für die Probenschalen (mit Barcodierung)

LSCP: Probenschalen (Einwegartikel)

LSCC: Verschlüsse für die Probenschalen (optional)

LILCM: IMMULITE Zytokine-Kontrollmodul (auf Humanserum basierend, in 2 Konzentrationen).

Ebenfalls benötigt

Transferringpipetten für die Proben; destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE bzw. IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für: Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Verdünnungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

Hinter jedem Probenträger können bis zu 4 Testeinheiten nachfolgen.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:

2 Wochen.

Proben zur Qualitätskontrolle:

Kontrollen oder Poolseren mit TNF- α in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

In einer vorläufigen Studie des Herstellers basierend auf der Messung von 58 Seren gesunder Blutspender ergaben sich Werte von nicht detekierbar bis 8,1 pg/ml.

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Heterophile Antikörper in Humanseren können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als pg/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: Bis 1 000 pg/ml (NIBSC 87/650)

Analytische Sensitivität: 1,7 pg/ml

High-Dose-Hook-Effect: Bis 100 000 pg/ml keiner.

Präzision im einzelnen Testansatz (intraassay): Statistik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle „Intraassay Precision“).

Präzision zwischen Testansätzen (interassay): Statistik aus 20 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle „Interassay Precision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei TNF- α Lösungen 1:19 versetzt (242, 592 und 988 pg/ml). (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-TNF- α Antikörper (siehe Tabelle „Specificity“).

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 382 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Die Proben (n=10) wurden in unbehandelte und heparinisierte-behandelte Vacutainer-Röhrchen gefüllt.

(Heparin) = 0,94 (Serum) + 10 pg/ml
r = 0,997

Mittelwerte:
400 pg/ml (Serum)
341 pg/ml (Heparin)

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 64 Patientenproben mit Milenia TNF- α verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 28–947 pg/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML) = 0,81 (Milenia) + 40 pg/ml
r = 0,971

Mittelwerte:
345 pg/ml (IMMULITE)
378 pg/ml (Milenia)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

alfa-TNF

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para la medición cuantitativa del Factor α de Necrosis Tumoral (TNF α) en suero o plasma heparinizado, como una ayuda en la valoración clínica de varias enfermedades inmunológicas.

Números de Catálogo: **LKNFZ** (50 tests), **LKNF1** (100 tests)

Código del Test: **TNA** Color: **Naranja**

Resumen y Explicación del Test

El Factor α de Necrosis Tumoral (caquetina) y el factor β de necrosis tumoral (linfotóxina) son dos proteínas muy parecidas que comparten una homología de secuencia del 34% en su secuencia de aminoácidos. Ambos mediadores actúan sobre sus células blanco mediante los mismos receptores y por tanto, muestran efectos biológicos similares, aunque no idénticos.

Bajo condiciones desnaturalizantes, TNF α es una proteína no glicosilada, de un peso molecular de 17 kDa. La forma biológicamente activa de TNF α es un trímero. Junto a esta forma soluble de TNF α , se encuentra una forma de la proteína unida a la membrana de las células productoras de TNF (28 kDa), lo que sirve como un pool de TNF α soluble que puede liberarse de la superficie celular por excisión proteolítica.

Diversas células producen TNF α : por ejemplo, los macrófagos, células T CD4⁺ y las células NK (natural killers) después de someterlas a estimulación con lipopolisacáridos. Además, las células del músculo liso, los neutrófilos polimorfonucleares, astrocitos y una variedad de líneas celulares tumorales tienen la capacidad de producir TNF α .

TNF α actúa de dos formas distintas mediante dos receptores de superficie diferentes, denominados Receptor I de TNF (p55) y el Receptor II de TNF (p75).

Estos receptores pueden identificarse en casi todos los tipos celulares, excepto los eritrocitos. Junto a estos receptores de TNF unidos a membrana, se sabe que las formas solubles son capaces de unir TNF α . Estas, por tanto, compiten con las formas unidas a la superficie celular y pueden inhibir los efectos del TNF α .

Debido a la existencia de receptores de TNF α en casi todas las células, TNF α muestra una amplia variedad de acciones biológicas. Tiene efectos citolítico y citostático sobre las células tumorales y muestra una actividad quimiotáctica sobre los neutrófilos. TNF α es un factor de crecimiento para los fibroblastos y estimula la síntesis de colagenasa y la reabsorción ósea de prostaglandina E₂ puede inducirse mediante TNF α porque activa los osteoclastos. TNF α estimula la proliferación de las células T tras la estimulación con IL-2 (Interleuquina-2). En ausencia de IL-2, TNF α induce la proliferación y diferenciación de las células beta.

Los niveles de TNF α en suero o plasma pueden ser elevados en los casos de sepsis, enfermedades autoinmunes, diversas enfermedades infecciosas y en el rechazo de trasplantes.

Principio del análisis

IMMULITE/IMMULITE 1000 alfa-TNF es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 60 minutos.

Recogida de la muestra

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente

aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El alfa-TNF IMMULITE/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos de tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativas.

Volumen requerido: 100 µl suero o plasma heparinizado. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 250 µl más que el volumen total requerido).

Conservación: 2 días a 2–8°C, o 6 meses a –20°C.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las canerías de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas de código de barras son necesarias para el ensayo.

Unidades de análisis de alfa-TNF (LNF1)

Cada unidad marcada con un código de barras contiene una bola recubierta con anticuerpo monoclonal murino anti-TNF α . Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

LKNFZ: 50 unidades.

LKNF1: 100 unidades.

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

Vial de reactivo de alfa-TNF (LNF2)

Con códigos de barras. 7,5 ml fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada a anticuerpo policlonal de conejo anti-TNF α , en una solución tampón, con conservante. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

LKNFZ: 1 vial. **LKNF1:** 2 viales.

Ajustadores de alfa-TNF (LNFL, LNFH)

Dos viales (bajo y alto) de alfa-TNF liofilizada en una matriz de suero no humano, en solución tampón, con conservante. Reconstituya cada vial con **3,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. Alicuote y congele antes de que pasen 3 horas de la reconstitución. Estable a –20°C durante 6 meses tras su reconstitución.

LKNFZ: 1 juego. **LKNF1:** 1 juego.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de alfa-TNF (LNFZ)

Para la dilución manual de las muestras de los pacientes. Un vial (25 ml) que contiene una matriz de suero no humano, libre de TNF α , en solución tampón. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrirse, o hasta 6 meses (aliquotados) a –20°C.

LSUBX: Substrato quimioluminiscente
LPWS2: Lavado de sonda
LKPM: Kit de limpieza de sonda
LCHx-y: Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)
LSCP: Recipientes de muestras (desechables)
LSCC: Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)
LILCM: Módulo de control de citoquina IMMULITE (dos niveles y basado en suero humano)

También necesario
Pipetas de transferencia de muestras;
agua destilada o desionizada; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para: preparación, procesamiento, diluciones, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visulamente cada unidad de rección para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

Cada soporte de recipientes de muestras puede acompañarse de cuatro unidades de reaccion como maximo.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Utilizar controles o pooles de sueros con al menos dos niveles diferentes de alfa-TNF (bajo y alto).

Valores Esperados

Se analizaron con el ensayo INMULITE TNF α un total de 58 muestras procedente de individuos totalmente sanos. El intervalo absoluto de estas muestras fue desde no detectable a 8,1 pg/ml.

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitación

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasiona un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en pg/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación).

Rango de Calibración: Hasta 1 000 pg/ml (NIBSC 87/650)

Sensibilidad: 1,7 pg/ml

Efecto de gancho a altas dosis:
Ninguno hasta 100 000 pg/ml.

Precisión intraensayo (dentro de una tanda): Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Ver la tabla de "Intraassay Precision").

Precisión entre ensayos (de una tanda a otra): Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 20 tomas distintas. (Ver la tabla de "Interassay Precision").

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de "Linearity" para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones alfa-TNF (242, 592 y 988 pg/ml). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para TNF α . (Véase la tabla "Specificity").

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 382 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: Se han recogido muestras (n=10) en tubos Vacutainers sin anticoagulante y en tubos Vacutainers con heparinizados.

(Heparina) = 0,94 (Suero) + 10 pg/ml
 $r = 0,997$

Medias:
400 pg/ml (Suero)
341 pg/ml (Heparina)

Comparación del Método: El ensayo se ha comparado con el Milenia TNF α en 64 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 28 a 947 pg/ml. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML) = 0,81 (Milenia) + 40 pg/ml
 $r = 0,971$

Medias:
345 pg/ml (IMMULITE)
378 pg/ml (Milenia)

Asistencia técnica

Contactese con su Distribuidor Nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE TNF-alpha

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de la cachectine (TNF α) dans le sérum ou le plasma hépariné. Réserve à un usage diagnostic *in vitro* avec les analyseurs IMMULITE et IMMULITE 1000, ce test constitue une aide pour l'évaluation clinique de différents troubles du système immunitaire.

Référence catalogue : **LKNFZ** (50 tests),
LKNF1 (100 tests)

Code produit : **TNA**.
Code couleur : **orange**.

Introduction

Le facteur nécrosant de tumeur α (cachectine) et le facteur nécrosant de tumeur β (lymphotoxine) sont deux protéines étroitement apparentées ayant en commun 34 % de leur séquence en acides aminés. Les deux médiateurs agissent sur leurs cellules cibles par l'intermédiaire des mêmes récepteurs et ont de ce fait des effets biologiques similaires mais non identiques.

En conditions dénaturantes, le TNF α est une protéine non-glycosylée de 17 kDa. La forme biologique active du TNF α est la forme trimérique. En plus de cette forme soluble du TNF α , on trouve une forme membranaire de 28 kDa en surface des cellules productrices de TNF, qui peut être libérée de la surface membranaire par clivage protéolytique et pourrait ainsi faire office de réserve pour la forme soluble du TNF α .

Différentes cellules produisent du TNF α : par exemple, les macrophages, les lymphocytes T CD4⁺ et les cellules NK après stimulation par des lipopolysaccharides. De plus, les cellules musculaires lisses, les polynucléaires neutrophiles, les astrocytes et diverses lignées cellulaires peuvent synthétiser du TNF α .

Le TNF α agit par l'intermédiaire de deux types de récepteurs membranaires appelés R-TNF I (p55) et R-TNF II (p75). Ces récepteurs sont retrouvés en surface de pratiquement tous les types cellulaires

à l'exception des érythrocytes. En plus de ces formes membranaires de récepteurs à TNF, on a mis en évidence des formes solubles capables de se lier au TNF α . Elles entrent donc en compétition avec les formes membranaires et peuvent inhiber les effets du TNF α .

En raison de la présence de récepteurs à TNF α en surface de pratiquement tous les types cellulaires, le TNF α possède un large spectre d'activités biologiques. Il a des propriétés cytolytiques et cytostatiques sur les cellules tumorales et une action chimiotactique sur les neutrophiles. Le TNF α est un facteur de croissance pour les fibroblastes et stimule la synthèse de collagénase et de prostaglandine E₂. La résorption osseuse peut être induite par le TNF α puisqu'il active les ostéoclastes. Le TNF α stimule la prolifération des cellules T après une stimulation par l'IL-2. En absence d'IL-2, le TNF α induit la prolifération et la différenciation des cellules bêta.

Les taux sérique et plasmatique de TNF α peuvent être élevés en cas de septicémie, de maladies auto-immunes ou infectieuses, et de rejet de greffe.

Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 TNF-alpha est un dosage chimiluminescent immunométrique, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 60 minutes.

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent

nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret TNF-alpha IMMULITE/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire : 100 μ l de sérum ou de plasma hépariné. (La cupule réactionnelle doit contenir au moins 250 μ l de plus que le volume total nécessaire.)

Conditions de conservation :
2 jours à +2°C/+8°C ou 6 mois à -20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2°/ +8 °C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les

étiquettes à code-barre sont nécessaires au dosage.

Tests unitaires TNF-alpha (LNF1)

Avec code-barres. Chaque unité-test contient une bille revêtue d'anticorps monoclonal murin anti-TNF α . Stable à +2C/+8°C jusqu'à la date de péremption. **LKNFZ**: 50 unités. **LKNF1**: 100 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant ouverture, afin d'éviter tout risque de condensation. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le système de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

Cartouche à réactif TNF-alpha (LNF2)

Avec code-barres. Flacon de 7,5 ml contenant un anticorps polyclonal de lapin anti-TNF α conjugué à de la phosphatase alcaline d'intestins de veau dans un tampon avec conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

LKNFZ: 1 cartouche.

LKNF1: 2 cartouches.

Ajusteurs TNF-alpha (LNFL, LNFH)

2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») lyophilisés de TNF α , dans une matrice tampon/ sérum non-humain avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Aliquoter et congeler dans les 3 heures suivant la reconstitution. Stable à -20 °C pendant 6 mois après reconstitution.

LKNFZ: 1 jeu. **LKNF1**: 1 jeu.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon TNF-alpha (LNFZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons. Un flacon 25 ml de matrice tampon/ sérum non-humain exempt de TNF α . Stable à +2/ +8 °C pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

LSUBX : Substrat chimiluminescent

LPWSM : Solution de lavage

LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LCHx-y : portoirs à cupules réactionnelles (avec code-barre)

LSCP : cupules réactionnelles (à usage unique)

LSCC : bouchons pour cupules réactionnelles (optionnel)

LILCM: Contrôle multiparamétrique IMMULITE Cytokines (à deux niveaux, à base de sérum humain).

Egalement requis

Pipettes de transfert à échantillon ; eau distillée ou désionisée ; contrôles.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

Chaque unité-échantillon peut être suivie par jusqu'à quatre unités-tests.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité :

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de TNF-alpha.

Valeurs de référence

Des échantillons prélevés sur un total de 58 individus en bonne santé ont été dosés avec le test IMMULITE TNF α . Les valeurs obtenues allaient de « non-mesurable » à 8,1 pg/ml.

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les

immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en pg/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation).

Domaine de mesure : jusqu'à 1 000 pg/ml (NIBSC 87/650)

Sensibilité analytique : 1,7 pg/ml

Effet-crochet : aucun jusqu'à 100 000 pg/ml.

Précision intra-essai (au sein d'une même série) : les valeurs ont été obtenues sur les résultats de 20 doublets d'échantillons dosés au cours d'une même série. (Voir le tableau « Intraassay Precision ».)

Précision inter-essais (entre plusieurs séries) : les valeurs ont été obtenues sur des échantillons dosés dans 20 séries différentes. (Voir le tableau « Interassay Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions TNF-alpha (242, 592 et 988 pg/ml). (Voir le tableau

« Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de TNF α . (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 382 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons: les échantillons (n=10) ont été recueillis dans des tubes vacutainer secs ou héparinés.

(Héparine) = 0,94 (Sérum) + 10 pg/ml
r = 0,997

Moyennes :
400 pg/ml (Sérum)
341 pg/ml (Héparine)

Comparaison de méthodes: le test a été comparé au test Milenia TNF α sur 64 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 28 à 947 pg/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML) = 0,81 (Milenia) + 40 pg/ml
r = 0,971

Moyennes :
345 pg/ml (IMMULITE)
378 pg/ml (Milenia)

Assistance technique

En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

IMMULITE TNF- α

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa del Fattore α della Necrosi Tumorale (TNF α) nel siero o nel plasma

eparinizzato, quale ausilio nella valutazione clinica di varie malattie immunologiche.

Codice: **LKNFZ** (50 test), **LKNF1** (100 test)

Codice del Test: **TNA** Colore: **Arancione**

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il fattore α della necrosi tumorale (cachectina) ed il fattore β della necrosi tumorale (linfotossina) sono due proteine strettamente collegate che condividono un'omologia della sequenza del 34% nella sequenza degli aminoacidi. I due mediatori agiscono sulle cellule bersaglio mediante gli stessi recettori; per questo motivo, i due mediatori mostrano effetti biologici simili, ma non identici.

In condizioni di denaturazione, il $TNF\alpha$ è una proteina non-glicosilata da 17 kDa. La forma di $TNF\alpha$ biologicamente attiva è un trimero. Oltre a questa forma solubile del $TNF\alpha$, una forma da 28 kDa legata alla membrana si manifesta sulla superficie delle cellule che producono il $TNF\alpha$ e che può servire come fonte di $TNF\alpha$ solubile; questa forma può essere proteoliticamente distaccata dalla superficie delle cellule.

Si è riscontrato che diverse cellule producono il $TNF\alpha$: per esempio i macrofagi, le cellule $CD4^+$ T e le cellule NK dopo stimolo con lipopolisaccaridi. Inoltre, le cellule muscolari lisce, i neutrofilii polimorfonucleici, gli astrociti, ed una varietà di linee cellulari di tumori possono produrre il $TNF\alpha$.

Il $TNF\alpha$ agisce sulla superficie delle cellule mediante due recettori diversi chiamati Recettore TNF I (p55) e Recettore TNF II (p75). E' possibile identificare questi recettori in quasi tutti i tipi di cellule eccetto negli eritrociti. Oltre alle forme dei recettori TNF legati alle cellule, si sono riscontrate forme solubili capaci di legare il $TNF\alpha$. Per questo motivo, competono con le forme legate alle cellule e possono inibire gli effetti del $TNF\alpha$.

A causa della presenza dei recettori del $TNF\alpha$ in quasi tutte le cellule, il $TNF\alpha$ presenta un range esteso di azioni biologiche. Esercita effetti citolitici e

citostatici sulle cellule tumorali e presenta attività chemiotattiche sui neutrofilii. Il $TNF\alpha$ è un fattore di crescita per i fibroblasti e stimola la sintesi della collagenasi ed induce il riassorbimento osseo della prostaglandina E_2 perchè attiva gli osteoclasti. Il $TNF\alpha$ migliora la proliferazione delle cellule T dopo stimolo con IL-2. In assenza di IL-2, il $TNF\alpha$ induce la proliferazione e la differenziazione delle cellule beta.

I livelli di $TNF\alpha$ nel siero o nel plasma possono essere elevati nella sepsi, nelle malattie autoimmuni, in varie malattie infettive e nel rigetto da trapianto.

Principio del Dosaggio

IMMULITE/IMMULITE 1000 TNF -alfa è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 60 minuti.

Prelievo dei Campioni

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni del siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE/IMMULITE 1000 TNF -alfa non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 100 μ L di siero o plasma eparinizzato. (Il porta campioni

deve contenere almeno 250 µL più del volume totale richiesto).

Conservazione: 2 giorni a 2–8°C o 6 mesi a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigene superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Sottostrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento).

Acqua Acqua: Utilizzare acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti sono un gruppo accoppiato. Le etichette del codice a barra sono necessarie per la prova.

Test Unit TNF-alfa (LNF1)

Ogni unit con codice a barra contiene una sferetta coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-TNF α . Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

LKNFZ: 50 unit. **LKNF1:** 100 unit.

Le buste delle test unit devono essere a temperatura ambientale prima di aprire. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatto la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere contro umidità.

Porta Reagente TNF-alfa (LNF2)

Con codice a barre, 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di coniglio anti-TNF α in un tampone, con conservanti. Conservare chiuso nel frigorifero: stabile a

2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato nella maniera indicata.

LKNFZ: 1 Porta Reagente.

LKNF1: 2 Porta Reagenti.

Calibratori TNF-alfa (LNFL, LNFH)

Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con TNF-Alfa liofila in una matrice/tampone di siero non umano, con conservanti.

Ricostituire ogni flacone con 3,0 mL di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finchè il materiale liofilo sia completamente dissolto. Aliquotare e congelare entro 3 ore dalla ricostituzione. Stabile a –20°C per 6 mesi dopo la ricostituzione.

LKNFZ: 1 set. **LKNF1:** 1 set.

Componenti del kit forniti separatamente

Diluente del TNF-alfa (LNFZ)

Per la diluizione manuale dei campioni dei pazienti. Un flacone (25 mL) contenente una matrice/ tampone di siero non umano priva di TNF α . Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

LSUBX: Substrato Chemiluminescente

LPWS2: Tampone di lavaggio dell'Ago

LKPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LCHx-y: Tubi porta campioni (con codice a barre)

LSCP: Porta Campioni (monouso)

LSCC: Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

LILCM: Controllo Citochine IMMULITE, controllo umano a due livelli su base sierica.

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: preparazione,

setup, diluizione, calibrazione, dosaggio e controllo di qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

Ogni tubo porta campioni può essere seguito da quattro test unit.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di TNF-alfa.

I valori attesi

Sono stati dosati campioni provenienti da 58 individui sani con il dosaggio IMMULITE TNF α . Il range assoluto di questi campioni era tra non rilevabile e 8,1 pg/mL.

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Dati sulle prestazioni

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in pg/mL. (Se non è notato altrimenti, tutti i risultati sono stati generati nei campioni di siero

raccolti in tubi senza barriere di gelatina o additivi che promuovono la coagulazione.)

Gamma di calibrazione: Fino a 1 000 pg/mL (NIBSC 87/650)

Sensibilità analitica: 1,7 pg/mL

Effetto di dosi forti:

Nessuno fino a 100 000 pg/mL.

Precisione intraprove (Entro la stessa esecuzione): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 ripetizioni in un'esecuzione unica (Vedere la tabella "Intraassay Precision").

Precisione interprove (Da un'esecuzione all'altra): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 esecuzioni diverse (Vedere la tabella "Interassay Precision").

Linearità: I campioni sono stati provati sotto varie diluizioni (Vedere la tabella "Linearity" per i dati rappresentativi).

Ricupero: Sono stati analizzati i campioni etichettati da 1 a 19 con tre soluzioni (242, 592 e 988 pg/mL) di TNF-alfa (Vedere la tabella "Recovery" per i dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per TNF α . (Vedere la tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 382 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: I campioni (n=10) sono stati prelevati in provette semplici o eparinizzate vacutainer.

(Eparina) = 0,94 (Siero) + 10 pg/mL
r = 0,997

Valore medio:
400 pg/mL (Siero)
341 pg/mL (Eparina)

Paragone dei metodi: La prova è stata paragonata al Milenia TNF α della DPC in 64 campioni di pazienti. (Gamma di concentrazione: da 28 a 947 pg/mL circa.

Verdere la grafica.) Mediante regressione lineare:

(IML) = 0,81 (Milenia) + 40 pg/mL
r = 0,971

Valore medio:
345 pg/mL (IMMULITE)
378 pg/mL (Milenia)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

alfa-TNF

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* nos analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 – para o doseamento quantitativo do Factor de Necrose de Tumor (FNT) em soro ou plasma heparanizado, como auxiliar na avaliação clínica de várias doenças imunológicas.

Números de catálogo: **LKNFZ** (50 testes), **LKNF1** (100 testes)

Código do teste: **TNA**

Cor: **Laranja**

Sumário e explicação do teste

O factor α de necrose de tumor (caquetina) e o factor β de necrose de tumor (linfotóxina) são duas proteínas de relação próxima com uma homologia de 34% na sua sequência de aminoácidos. Ambos os mediadores actuam nas suas células alvo através dos mesmos receptores e portanto demonstram efeitos biológicos similares mas não idênticos.

Sob condições de desnaturação, o FNT α é uma proteína não glicosilada, de 17 kDa. A forma biologicamente activa do FNT α é um trimero. Além desta forma solúvel do FNT α , outra forma ligada à membrana, de 28 kDa, ocorre nas superfícies das células produtoras de FNT que podem actuar como um "pool" para o FNT α solúvel e podem ser clivadas proteoliticamente da superfície da célula.

Diversas células foram comprovadas como produtoras de FNT α : por exemplo,

macrófagos, células T CD4⁺, e células NK após estimulação com lipopolisacarídeos. Além disso, células do musculo liso, neutrófilos polimorfonucleares, astrócitos e uma variedade de linhas celulares tumorais podem produzir FNT α .

O FNT α actua através de dois receptores distintos de superfície de célula, chamados de Receptor I FNT (p55) e Receptor II FNT (p75). Estes receptores podem ser identificados em praticamente todos os tipos de células excepto eritrócitos. Além das formas de FNT ligadas aos receptores das células, existem formas solúveis capazes de se ligarem a TNF α . Estas formas, portanto, competem com as formas ligadas às células e podem inibir os efeitos de FNT α .

Devido à presença de receptores FNT α em quase todas as células, FNT α demonstra uma ampla variedade de acções biológicas. Possui efeitos citolíticos e citostáticos em células tumorais e apresenta actividade quimiostática em neutrófilos. O FNT α é um factor de crescimento para fibroblastos e estimula a síntese da colagenase e prostaglandina E₂, a reabsorção óssea também pode ser induzida por FNT α já que este activa os osteoclastos. FNT α aumenta a proliferação de células T após estimulação com IL-2. Na ausência de IL-2, FNT α induz a proliferação e diferenciação de células beta.

Os níveis plasmáticos ou séricos de FNT α podem estar elevados em sépsis, doenças auto-imunes, várias doenças infecciosas e rejeição a transplante.

Princípio do Procedimento

A alfa-TNF IMMULITE/IMMULITE 1000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente.

Ciclos de incubação: 1 × 60 minutos.

Colheita

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE / IMMULITE 1000 alfa-TNF não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de amostra: 100 µL de soro ou plasma heparinizado. (A cuvete da amostra deve conter um mínimo de 250 µL a mais que o volume total exigido.)

Estabilidade: 2 dias a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; ao eliminar, dilua com grande volume de água para evitar a acumulação de azidas metálicas, explosivas, na canalização.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Use água destilada ou deionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Unidades de Teste de alfa-TNF (LNF1)

Cada unidade rotulada com código de barras contém uma esfera revestida com anticorpo monoclonal anti-FNT α de rato. Estável até a data de validade a 2–8°C.

LKNFZ: 50 unidades.

LKNF1: 100 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela borda superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

Embalagem de reagentes de alfa-TNF (LNF2)

Com código de barras. Contém 7,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com anticorpo policlonal de coelho anti-FNT α em tampão, com conservante. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C. Recomenda-se a utilização até 30 dias após ser aberto quando armazenado de acordo com as indicações.

LKNFZ: 1 embalagem.

LKNF1: 2 embalagens.

Ajustes alfa-TNF (LNFL, LNFH)

Contém dois frascos (nível alto e baixo) de alfa-TNF liofilizada numa matriz de soro não humano tamponizada, com conservante. Reconstitua cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture gentilmente por até o material liofilizado dissolver completamente. Aliquote e congele dentro de 3 horas após a reconstituição. Estável por 6 meses após a reconstituição a –20°C.

LKNFZ: 1 conjunto. **LKNF1:** 1 conjunto.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluyente de amostra para alfa-TNF (LNFZ)

Para a diluição manual de amostras de doentes. Um frasco (25 mL) com matriz tamponizada de soro não humano sem

FNT α . Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

LSUBX: Substrato quimioluminescente

LPWS2: Solução de lavagem

LKPM: Kit de limpeza do pipetador

LCHx-y: Suportes das cuvets de amostra (com código de barras)

LSCP: Cuvets de amostra (descartáveis)

LSCC: Tampa de cuvets de amostra (opcional)

LILCM: Módulo de Controlo de Citoquinas IMMULITE (dois níveis, com base em soro humano)

Também necessário

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou deionizada; controlos.

Procedimento do doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para: preparação, setup, diluições, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

Cada suporte de cuvete de amostra pode ser seguido por quatro unidades de teste.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:

utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de alfa-TNF.

Valores de Referência

Amostras de um total de 58 indivíduos saudáveis foram doseadas pelo procedimento FNT α IMMULITE. Os valores absolutos destas amostras foram de não detectável a 8,1 pg/mL.

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Os anticorpos heterófilicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em pg/mL. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

Calibração: Até 1 000 pg/mL (NIBSC 87/650)

Sensibilidade Analítica: 1,7 pg/mL

Efeito Hook de Alta Dose:

Nenhum até 100 000 pg/mL.

Precisão Intra-ensaio (Entre ensaios):

Cálculos estatísticos foram efectuados para os resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Ver a tabela de "Intraassay Precision".)

Precisão Inter-ensaio (Ensaio a

ensaio): Cálculos estatísticos foram efectuados para amostras doseadas em 20 ensaios diferentes. (Ver a tabela de "Interassay Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções alfa-TNF (242, 592 e

988 pg/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para TNF α (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: A presença de hemoglobina em concentrações até 382 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de trigliceridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: As amostras (n=10) foram extraídas para tubos de contenção a vácuo heparinizados e simples.

(Heparina) = 0,94 (Soro) + 10 pg/mL
r = 0,997

Médias:
400 pg/mL (Soro)
341 pg/mL (Heparina)

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado ao Milenia TNF α em 64 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 28 a 947 pg/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML) = 0,81 (Milenia) + 40 pg/mL
r = 0,971

Médias:
345 pg/mL (IMMULITE)
378 pg/mL (Milenia)

Assistência Técnica:

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2006-01-09

PILKNF – 8



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00