



IVD

CE

# T3-RIA-CT

*KIP1631*

---

Version : 230123

Date of issue : 23/01/2023

Revision date: 23/01/2023

# History

---

## Summary of change:

<b>Current Version:</b>
<b>230123</b>
New logo



en

Read entire protocol before use.

## T3-RIA-CT

### I. INTENDED USE

Radioimmunoassay for the *in vitro* quantitative measurement of human 3,5,3' Triiodothyronine (T3) in serum.

### II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name : DIAsource T3-RIA-CT Kit
- B. Catalog number : KIP1631 : 96 tests
- C. Manufactured by : DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :  
Tel : +32 (0)10 84.99.11                  Fax : +32 (0)10 84.99.91

### III. CLINICAL BACKGROUND

#### A. Biological activity

The thyroid gland exerts powerful and essential regulatory influences on growth, differentiation, cellular metabolism, and general hormonal balance, as well as on the maintenance of metabolic activity and the development of the skeletal and organ system.

The hormones thyroxine (T4) and 3,5,3' triiodothyronine (T3) circulate in the blood steam, mostly bound to the plasma protein, thyroxine binding globulin (TBG). The concentration of T3 is much less than that of T4, but its metabolic potency is much greater.

#### B. Clinical applications

T3 determination is an important factor in the diagnosis of thyroid disease. Its measurement has uncovered a variant of hyperthyroidism in thyrotoxic patient with elevated T3 levels and normal T4 levels. An increase in T3 without an increase in T4 is frequently a forerunner of recurrent thyrotoxicosis in previously treated patients. In other patients, euthyroidism is attributable to normal T3, although their T4 values are subnormal.

T3 determination is also useful in monitoring both patient under treatment for hyperthyroidism and patients who have discontinued anti-thyroid drug therapy. It is especially valuable in distinguishing between euthyroid subjects.

In women, T3 levels are elevated during pregnancy, during estrogen treatment, and contraceptive hormone therapy. When T3 levels parallel TBG increases in a manner analogous to T4 levels, these changes are not a reflection of altered thyroid status.

#### IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

A fixed amount of  $^{125}\text{I}$  labelled T3 competes with the T3 to be measured present in the sample or in the calibrator for a fixed amount of anti-T3 antibody sites, which are bound to the goat anti mouse antibodies immobilized to the wall of a polystyrene tube. After 1 hour incubation at room temperature, an aspiration step terminates the competition reaction. The tubes are then washed with 2 ml of working wash solution and aspirated again. A calibration curve is plotted and the T3 concentrations of the samples are determined by dose interpolation from the calibration curve.

#### V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 Tests Kit	Colour Code	Reconstitution
Tubes coated with GAM (Goat anti Mouse)	2 x 48	black	<b>Ready</b> for use
Ag <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">125I</span> TRACER: $^{125}\text{I}$ odine labelled T3 (HPLC grade) in phosphate buffer with bovine casein and azide (<0.1%)	1 vial 21 ml 111 kBq	red	<b>Ready</b> for use
CAL <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">0</span> Zero Calibrator in human serum and thymol	1 vial lyophil.	yellow	<b>Add</b> 0.5 ml distilled water
CAL <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">N</span> Calibrators - N = 1 to 5 (see exact values on vial labels) in human serum and thymol	5 vials lyophil.	yellow	<b>Add</b> 0.5 ml distilled water
Ab Anti-T3 (monoclonal) antibodies in phosphate buffer with bovine serum albumin and thymol	1 vial lyophil.	blue	<b>Add</b> 11ml distilled water
WASH <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">SOLN</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">CONC</span> Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	brown	<b>Dilute</b> 70 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROL <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">N</span> Controls - N = 1 or 2 in human plasma with thymol	2 vials lyophil.	silver	<b>Add</b> 0.5 ml distilled water

Note : Use the zero calibrator for sera dilutions.

#### VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

1. Distilled water
2. Pipettes for delivery of: 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$ , 500  $\mu\text{l}$  and 2 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
3. Vortex mixer
4. Magnetic stirrer
5. Tube shaker (700 rpm)
6. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
7. Aspiration system (optional)
8. Any gamma counter capable of measuring  $^{125}\text{I}$  may be used (minimal yield 70%).

#### VII. REAGENT PREPARATION

- A. **Calibrators:** Reconstitute the zero calibrator with 0.5 ml distilled water and the other calibrators with 0.5 ml distilled water.
- B. **Controls:** Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- C. **Anti-T3:** Reconstitute the anti-T3 with 11 ml distilled water.
- D. **Working Wash solution:** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

#### VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, calibrators are stable for 7 days at 2-8°C and controls are stable for 4 days at 2-8°C.
- For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximum 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- After reconstitution, the anti-T3 antibodies are stable for 6 weeks at 2-8°C.
- DO NOT FREEZE.**
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

#### IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Serum samples must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 24 hrs, storage at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

#### X. PROCEDURE

##### A. Handling notes

- Do not use the kit or components beyond expiry date.
- Do not mix materials from different kit lots.
- Bring all the reagents to room temperature prior to use.
- Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling.
- Use a clean disposable pipette tip for addition of each different reagent and sample in order to avoid cross-contamination. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.
- Respect the incubation times.
- Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

##### B. Procedure

1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For the determination of total counts, label 2 normal tubes
2. Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 50 $\mu\text{l}$  of each into the respective tubes.
3. Dispense 200  $\mu\text{l}$  of  $^{125}\text{I}$ odine labelled T3 into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
4. Dispense 100  $\mu\text{l}$  of anti-T3 into each tube, except tubes for total counts.
5. Shake the tube rack gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
6. Incubate for 1 hour at room temperature with continuous shaking.
7. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
8. Wash tubes with 2 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
9. Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
10. Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

#### XI. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. Calculate the bound radioactivity as a percentage of the binding determined at the zero calibrator point (0) according to the following formula :

$$\text{B/B0} (\%) = \frac{\text{Counts (Calibrator or sample)}}{\text{Counts (Zero Calibrator)}} \times 100$$

3. Using a 3 cycle semi-logarithmic or logit-log graph paper, plot the (B/B0(%)) values for each calibrator point as a function of the T3 concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
4. Computer assisted methods can also be used to construct the calibration curve. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.
5. By interpolation of the sample (B/B0 (%)) values, determine the T3 concentrations of the samples from the calibration curve.
6. For each assay, the percentage of total tracer bound in the absence of unlabelled T3 (B0/T) must be checked.

## XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

T3	cpm	B/Bo (%)
Total count	40019	
Calibrator		
0.00 nmol/l	28572	100.0
0.35 nmol/l	24781	86.7
1.00 nmol/l	18112	63.4
2.50 nmol/l	10587	37.1
6.50 nmol/l	4629	16.2
14.00 nmol/l	2684	9.4

## XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

### A. Detection limit

The LoB was calculated by measuring the blank several times and calculating the 95<sup>th</sup> percentile of the distribution of the test values. The LoB was calculated to be 0.15 nmol/l.

The LoD was calculated as described in the guideline. The LoD was calculated to be 0.22 nmol/l.

The LoQ was calculated by testing 5 samples of low value 14 times in different test. The LoQ was calculated to be 0.22 nmol/l. with CV of 20%.

### B. Specificity

The percentage of cross-reaction estimated by comparison of the concentration yielding a 50% inhibition is respectively:

Compound	Cross-Reactivity (%)
L-3,3',5 - triiodothyronine (L-T3)	100
3,3',5' - triiodothyronine (rT3)	ND
L-thyoxine (L-T4)	0.17
D-thyroxine (D-T4)	0.04
3,3',5 - triiodothyroacetic acid (TRIAC)	52
3,5 - diiodo-L-tyrosine	0.22

ND = not detectable

Note: this table shows the cross-reactivity for the anti T3

### C. Precision

#### INTRA-ASSAY PRECISION

#### INTER-ASSAY PRECISION

Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (nmol/l)	CV (%)	Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (nmol/l)	CV (%)
A	10	1.06 ± 0.05	4.7	A	10	1.22 ± 0.05	3.7
B	10	5.49 ± 0.31	5.6	B	10	5.43 ± 0.16	3.0

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

### D. Accuracy

#### DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (nmol/l)	Measured Concent. (nmol/l)
A	1/1	-	12.29
	1/2	6.15	5.67
	1/4	3.07	2.98
	1/8	1.54	1.42
	1/16	0.77	0.72

Samples were diluted with zero calibrator.

## RECOVERY TEST

Sample	added T3 (nmol/l)	Recovered T3 (nmol/l)	Recovered (%)
1	1	0.89	89%
	2	2.1	105%
	4	4.37	109%
	8	8.17	102%
	12	14.47	120%

To the best of our knowledge, no international reference material exists for this parameter.

### E. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 60 minutes after the calibrator has been added to coated tubes.

## TIME DELAY

Serum nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	1.04	1.07	1.05	1.10
C 2	5.15	5.74	6.13	5.76

## XIV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises.

## XV. REFERENCE INTERVALS

These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

T3 concentrations for untreated euthyroid subjects ranged from 1.7 to 2.9 nmol/l (n=80).

## XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

### Safety

For *in vitro* diagnostic use only.

This kit contains  $^{125}\text{I}$  (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and  $\gamma$  (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

#### XVII. BIBLIOGRAPHY

1. LARSEN, P.R. (1972)  
**Triiodothyronine : Review of Recent Studies of ist Physiology and Pathophysiology in Man.**  
Metabolism, 21, 1073-1092.
2. UTIGER, R.D. (1974)  
**Serum Triiodothyronine in Man.**  
Ann. Rev. Med., 25, 289-302.
3. HOLLANDER, C.S., *et al.* (1972)  
**Clinical Laboratory Observation in Cases of T3 Toxicosis Confirmed by Radioimmunoassay.**  
Lancet., !, 609-611.
4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970)  
**T3 thyrotoxicosis ; Thyrotoxicosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.**  
Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.
5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK – NIELSEN, K. (1974)  
**Acta – Endocrinol.**  
77, 71.

#### XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µl	CALIBRATORS µl	SAMPLE (S) CONTROLS µl
Calibrators (0 to 5)	-	50	-
Samples, Controls	-	-	50
Tracer	200	200	200
Anti-T3	-	100	100
Incubation	1 hour at room temperature with continuous shaking		
Separation	-	Aspirate (or decant) 2.0 ml	
Working Wash solution			
Separation		Aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

Other translations of this Instruction for Use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

Lire le protocole en entier avant l'utilisation.

## T3-RIA-CT

### I. USAGE PRÉVU

Radio-immunodosage pour la mesure quantitative *in vitro* de la 3,5,3'-triiodothyronine (T3) sérique d'origine humaine.

### II. INFORMATIONS GÉNÉRALES

- A. Nom déposé : Trousse DIAsource T3-RIA-CT
- B. Référence : KIP1631 : 96 tests
- C. Fabricant : DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique.

Pour toute assistance technique ou information concernant les commandes, contacter :  
Tél. : +32 (0)10 84.99.11      Fax : +32 (0)10 84.99.91

### III. CONTEXTE CLINIQUE

#### A. Activité biologique

La glande thyroïde exerce une influence régulatrice essentielle et puissante sur la croissance, la différenciation, le métabolisme cellulaire et l'équilibre hormonal général, ainsi que sur l'entretien de l'activité métabolique et le développement des systèmes squelettique et organique.

La thyroxine (T4) et la 3,5,3'-triiodothyronine (T3) sont des hormones qui circulent dans le sang, essentiellement liées à une protéine plasmatique, la globuline de liaison de la thyroxine (TBG pour « thyroxine binding globulin »). La concentration de T3 est beaucoup moins importante que la concentration de T4, mais sa puissance métabolique est bien plus grande.

#### B. Applications cliniques

La mesure de T3 est un facteur important dans le diagnostic des maladies de la thyroïde. Sa mesure a permis de révéler une variante de l'hyperthyroïdie chez les patients thyrotoxiques présentant un taux élevé de T3 et un taux normal de T4. L'augmentation du taux de T3 sans augmentation du taux de T4 est souvent un signe avant-coureur de récurrence d'une thyrotoxicose chez des patients précédemment traités. Chez d'autres patients, l'euthyroïdie est attribuable au taux normal de T3, même si les valeurs de T4 sont inférieures à la normale.

La mesure de T3 est également utile dans la surveillance des patients sous traitement pour une hyperthyroïdie ainsi que celle des patients ayant arrêté un traitement médicamenteux anti-thyroïdien. Elle est particulièrement précieuse pour distinguer les différents sujets euthyroïdiens.

Chez les femmes, les taux de T3 sont plus élevés pendant la grossesse, pendant un traitement par œstrogènes ou un traitement de contraception hormonale. Lorsque le taux de T3 augmente parallèlement au taux de TBG de manière analogue au taux de T4, ces modifications ne reflètent pas une altération du statut thyroïdien.

#### IV. PRINCIPES DE LA MÉTHODE

Une quantité fixe de T3 marqué à l'iode 125 entre en compétition avec la T3 à mesurer dans l'échantillon ou dans le calibrateur pour une quantité donnée de sites d'anticorps anti-T3, liés aux anticorps de chèvre anti-souris immobilisés sur la paroi d'un tube en polystyrène. Après une heure d'incubation à température ambiante, l'étape d'aspiration met fin à la réaction de compétition. Les tubes sont alors lavés avec 2 ml de Solution de lavage de travail et à nouveau aspirés. Une courbe de calibration est tracée et la concentration de T3 des échantillons est mesurée par interpolation des doses à partir de la courbe de calibration.

#### V. RÉACTIFS FOURNIS

Réactifs	Trousse de 96 tests	Code couleur	Reconstitution
 Tubes avec revêtement de Chèvre anti-souris (GAM) (Goat anti-Mouse)	2 x 48	noir	<b>Prêts à l'emploi</b>
 TRACEUR : T3 marqué à l'iode 125 ( $^{125}\text{I}$ ) (grade HPLC) dans un tampon phosphate avec caséine bovine et azoture (<0,1 %)	1 flacon 21 ml 111 kBq	rouge	<b>Prêts à l'emploi</b>
 Calibrateur zéro dans du sérum humain avec thymol	1 flacon lyophil.	jaune	<b>Ajouter 0,5 ml d'eau distillée</b>
 Calibrateurs — N = 1 à 5 (voir les valeurs exactes sur l'étiquette des flacons) dans du sérum humain avec thymol	5 flacons lyophil.	jaune	<b>Ajouter 0,5 ml d'eau distillée</b>
 Anticorps anti-T3 (monoclonaux) dans du tampon phosphate avec albumine de sérum bovin et thymol	1 flacon lyophil.	bleu	<b>Ajouter 11 ml d'eau distillée</b>
 Solution de lavage (TRIS-HCl)	1 flacon 10 ml	brun	<b>Diluer la solution 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).</b>
 Témoins - N = 1 ou 2 dans du plasma humain avec thymol	2 flacons lyophil.	argent	<b>Ajouter 0,5 ml d'eau distillée</b>

Note : Utiliser le calibrateur zéro pour les dilutions de sérum.

#### VI. MATÉRIEL NON FOURNI

Le matériel suivant est nécessaire, mais n'est pas fourni dans la trousse :

- Eau distillée
- Pipettes pour dispenser des volumes de : 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl et 2 ml (l'utilisation de pipettes de précision munies de pointes en plastique jetables est recommandée)
- Mélangeur vortex
- Agitateur magnétique
- Agitateur pour tubes (700 trm)
- Seringue automatique de 5 ml (de type Cornwall) pour le lavage
- Système d'aspiration (facultatif)
- Tout compteur gamma capable de mesurer l'iode 125 ( $^{125}\text{I}$ ) peut être utilisé (rendement minimal de 70 %).

#### VII. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

- Calibrateurs** : Reconstituer le calibrateur zéro et les autres calibrateurs avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Témoins** : Reconstituer les témoins avec 0,5 ml d'eau distillée.

C. **Anti-T3** : Reconstituer l'anti-T3 avec 11 ml d'eau distillée.

D. **Solution de lavage de travail** : Préparer un volume approprié de Solution de lavage de travail en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de lavage concentrée (70 x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser la solution. Éliminer toute Solution de lavage de travail à la fin de la journée.

#### VIII. CONSERVATION ET MENTION DE LA DATE DE PÉREMPTE SUR LES RÉACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les éléments de la trousse sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, à condition que la trousse soit conservée entre 2 et 8 °C.
- Après reconstitution, les calibrateurs sont stables pendant 7 jours entre 2 et 8 °C, les contrôles sont stables pendant 4 jours entre 2 et 8°C.. Pour de plus longues périodes de conservation, des aliquotes doivent être conservées à -20 °C pour une période maximum de 3 mois. Éviter tout cycle ultérieur de congélation-décongélation.
- Après reconstitution, les anticorps anti-T3 restent stables pendant 6 semaines entre 2 et 8 °C. **NE PAS CONGÉLER.**
- Une Solution de lavage de travail fraîchement préparée doit être utilisée le jour même.
- Après sa première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date de péremption s'il est conservé dans son flacon d'origine bien fermé, entre 2 et 8 °C.
- Les modifications d'aspect physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

#### IX. RECUEIL ET PRÉPARATION DES SPÉCIMENS

- Les échantillons de sérum doivent être conservés à 2-8 °C.
- Si le test n'est pas démarré dans un délai de 24 h, il est recommandé de les conserver à -20 °C.
- Éviter tout cycle ultérieur de congélation-décongélation.

#### X. PROCÉDURE

##### A. Remarque concernant la manipulation

- Ne pas utiliser la trousse ou ses composantes au-delà de la date de péremption.
- Ne pas mélanger les matériaux de lots de trousse différents.
- Amener tous les réactifs à température ambiante avant l'utilisation.
- Bien mélanger tous les réactifs et tous les échantillons en agitant doucement ou en les faisant tourner doucement.
- Utiliser une pointe de pipette jetable propre pour ajouter chaque réactif différent et chaque échantillon, afin d'éviter toute contamination croisée. Les pipettes de haute précision ou les équipements de pipetage automatisé améliorent la précision.
- Respecter les temps d'incubation.
- Préparer une courbe de calibration pour chaque analyse ; ne pas utiliser les données d'analyses précédentes.

##### B. Procédure

- Étiqueter les tubes avec revêtement en duplicita pour chaque calibrateur, témoin ou échantillon. Pour le comptage total, étiqueter deux tubes sans revêtement.
- Mélanger brièvement sur vortex les calibrateurs, les témoins et les échantillons et dispenser 50 µl de chaque dans leurs tubes respectifs.
- Dispenser 200 µl de T3 marqué à l'iode 125 dans chaque tube, y compris les tubes sans revêtement pour le comptage total.
- Dispenser 100 µl d'anti-T3 dans chaque tube, excepté les tubes destinés au comptage total.
- Agiter doucement le portoir de tubes avec la main pour libérer les éventuelles bulles d'air piégées.
- Incuber 1 heure à température ambiante en agitant constamment.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (excepté les tubes de comptage total). S'assurer que la pointe en plastique de l'aspireur atteint le fond du tube à revêtement afin de bien prélever tout le liquide.
- Laver les tubes avec 2 ml de Solution de lavage de travail (excepté les tubes de comptage total) et aspirer (ou décanter). Éviter de générer de la mousse pendant l'ajout de la Solution de lavage de travail.
- Laisser les tubes reposer en position verticale pendant deux minutes puis aspirer la goutte de liquide rémanente.
- Procéder au comptage des tubes pendant 60 secondes dans un compteur gamma.

## XI. CALCUL DES RÉSULTATS

1. Calculer la moyenne des mesures effectuées en duplicita.
2. Calculer la radioactivité liée en pourcentage de la liaison mesurée au point calibrateur zéro (0) selon la formule suivante :

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{Comptage (Calibrateur ou Échantillon n)}}{\text{Comptage (Calibrateur Zéro)}} \times 100$$

3. Avec un papier 3 cycles semi-logarithmique ou logit-log, tracer les valeurs ( $B/B_0 (\%)$ ) de chaque point calibrateur en fonction de la concentration de T3 de chaque point calibrateur. Rejeter toute valeur hors norme évidente.
4. Il est également possible d'utiliser des méthodes assistées par ordinateur pour générer une courbe de calibration. Si le traitement des résultats est automatisé, il est recommandé d'utiliser une fonction logistique à 4 paramètres pour l'ajustement de la courbe.
5. Par interpolation des valeurs des échantillons ( $B/B_0 (\%)$ ), mesurer la concentration de T3 des échantillons à l'aide de la courbe de calibration.
6. Pour chaque analyse, le pourcentage de traceur total lié en l'absence de T3 non marqué ( $B_0/T$ ) doit être vérifié.

## XII. DONNÉES TYPES

Les données suivantes sont fournies à titre d'illustration uniquement et ne doivent jamais être utilisées à la place de la courbe de calibration en temps réel.

T3	cpm	B/Bo (%)
Comptage total	40 019	
Calibrateur		
0,00 nmol/l	28 572	100,0
0,35 nmol/l	24 781	86,7
1,00 nmol/l	18 112	63,4
2,50 nmol/l	10 587	37,1
6,50 nmol/l	4 629	16,2
14,00 nmol/l	2 684	9,4

## XIII. PERFORMANCE ET RESTRICTIONS

### A. Limite de détection

La limite du blanc (LoB), la limite de détection et la limite de quantification (LoQ) ont été déterminées en suivant la directive CLSI EP17-A.

La LoB a été calculée en mesurant le blanc plusieurs fois et en calculant le percentile 95 de la distribution des valeurs d'analyse. La LoB calculée est de 1,69 nmol/l.

La LoD a été calculée comme décrit dans la directive. La LoD calculée est de 2,81 nmol/l.

La LoQ a été calculée en testant 14 fois dans des analyses différentes 5 échantillons ayant une valeur faible. La LoQ calculée est de 4,39 nmol/l avec un CV de 20%.

### B. Spécificité

Le pourcentage de réaction croisée estimé par comparaison de la concentration générant une inhibition de 50 % est respectivement :

Composé	Réactivité croisée (%)
L-3,3',5-triodothyronine (L-T3)	100
3,3',5'-triodothyronine (rT3)	ND
L-thyroxine (L-T4)	0,17
D-thyroxine (D-T4)	0,04
Acide 3,3',5-triodothyroacétique (TRIAC)	52
3,5-diido-L-tyrosine	0,22

ND = non détectable

**Remarque :** Ce tableau montre la réactivité croisée pour l'anti-T3.

### C. Précision

#### PRÉCISION INTRA-ESSAI

#### PRÉCISION INTER-ESSAIS

Sérum	N	$\bar{x} \pm SD$ (nmol/l)	CV (%)	Sérum	N	$\bar{x} \pm SD$ (nmol/l)	CV (%)
A	10	1,06 ± 0,05	4,7	A	10	1,22 ± 0,05	3,7
B	10	5,49 ± 0,31	5,6	B	10	5,43 ± 0,16	3,0

SD : Écart-type (standard deviation) ; CV : Coefficient de variation

### D. Exactitude

#### TEST DE DILUTION

Échantillon	Dilution	Concentration théorique (nmol/l)	Concentration mesurée (nmol/l)
A	1/1	—	12,29
	1/2	6,15	5,67
	1/4	3,07	2,98
	1/8	1,54	1,42
	1/16	0,77	0,72

Les échantillons ont été dilués avec le calibrateur zéro.

#### TEST DE RECOUVREMENT

Échantillon	T3 ajouté (nmol/l)	T3 recouvré (nmol/l)	Recouvré (%)
1	1	0,89	89 %
	2	2,1	105 %
	4	4,37	109 %
	8	8,17	102 %
	12	14,47	120 %

À notre connaissance, il n'existe aucun matériel international de référence pour ce paramètre.

### E. Délai entre l'ajout du dernier calibrateur et l'ajout des échantillons

Comme le montrent les données ci-dessous, les résultats du test restent exacts même lorsqu'un échantillon est ajouté 60 minutes après l'ajout du calibrateur aux tubes à revêtement.

#### DÉLAI

Sérum (nmol/l)	0'	20'	40'	60'
C 1	1,04	1,07	1,05	1,10
C 2	5,15	5,74	6,13	5,76

## XIV. CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le Témoin 1 et/ou le Témoin 2 ne sont pas dans la plage spécifiée sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins qu'une explication satisfaisante de cette différence ne soit apportée.
- Si on le souhaite, chaque laboratoire peut préparer ses propres ensembles d'échantillons témoins, à conserver congelés en aliquotes.
- Les critères d'acceptation des différences entre les résultats de duplicitas d'échantillons doivent être basés sur les Bonnes pratiques de laboratoire.

## XV. INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Ces valeurs sont communiquées à titre indicatif uniquement ; chaque laboratoire doit établir sa propre plage de valeurs normales.

Les concentrations de T3 pour des sujets euthyroïdiens non traités varient de 1,7 à 2,9 nmol/l (n = 80).

## XVI. PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

### Sécurité

Uniquement destiné à un usage diagnostic *in vitro*.

Cette trousse contient de l'iode 125 ( $^{125}\text{I}$ ; demi-vie : 60 jours) qui émet des radiations ionisantes de type X (28 keV) et  $\gamma$  (35,5 keV).

Ce produit radioactif ne peut être fourni qu'à des personnes autorisées et ne peut être utilisé que par elles ; l'achat, la conservation, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont sujets à la législation du pays du client final. En aucun cas le produit ne devra être administré à des êtres humains ou des animaux.

Toute manipulation de matériel radioactif doit se faire dans une zone désignée, à l'abri du passage régulier. Un registre de réception et de conservation du matériel radioactif doit être tenu par le laboratoire. L'équipement et le matériel de verre du laboratoire susceptibles d'être contaminés par des substances radioactives doivent être rangés à part pour éviter toute contamination croisée de différents radioisotopes.

Tout déversement radioactif doit être immédiatement nettoyé conformément aux procédures de sécurité concernant les radiations. Les déchets radioactifs doivent être éliminés conformément à la réglementation et aux directives des autorités ayant juridiction sur le laboratoire. Le respect des règles de base de sécurité par rapport aux radiations permet une protection adéquate.

Les composantes de sang humain incluses dans la trousse ont été testées par des méthodes approuvées par les instances européennes et/ou la FDA, et ont donné des résultats négatifs pour HbsAg et les anticorps anti-VHC, anti-HIV-1 et anti-HIV-2. Aucune méthode connue ne peut donner l'assurance totale que les dérivés de sang humain ne transmettront pas l'hépatite, le SIDA ou d'autres infections. Par conséquent, la manipulation des réactifs et des spécimens de sérum doit se faire conformément aux procédures de sécurité locales.

Tous les produits et les dérivés d'origine animale ont été recueillis chez des animaux sains. Les composantes bovines sont issues de pays où il n'a pas été signalé d'ESB. Néanmoins, les composantes contenant des substances animales doivent être traitées comme étant potentiellement infectieuses.

Éviter tout contact de la peau avec les réactifs (présence d'azoture de sodium comme conservateur). L'azoture dans les composantes de cette trousse peut réagir avec le plomb ou le cuivre des canalisations et former ainsi des azotures de métal hautement explosives. Pendant l'étape de lavage, rincer les canalisations avec beaucoup d'eau afin d'éviter toute accumulation d'azotures.

Ne pas fumer, boire, manger ou appliquer des cosmétiques dans la zone de travail. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements de protection et des gants jetables.

## XVII. BIBLIOGRAPHIE

1. LARSEN, P.R. (1972)  
**Triiodothyronine : Review of Recent Studies of in Physiology and Pathophysiology in Man.**  
Metabolism, 21, 1073-1092.
2. UTIGER, R.D. (1974)  
**Serum Triiodothyronine in Man.**  
Ann. Rev. Med., 25, 289-302.
3. HOLLANDER, C.S., *et al.* (1972)  
**Clinical Laboratory Observation in Cases of T3 Toxicosis Confirmed by Radioimmunoassay.**  
Lancet 299, 7751, 609-611.
4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970)  
**T3 Thyrotoxicosis: Thyrotoxicosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.**  
Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.
5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK – NIELSEN, K. (1974)  
**Acta – Endocrinol.**  
77, 71.

## XVIII. RÉSUMÉ DU PROTOCOLE

	COMPTAGE TOTAL μl	CALIBRA-TEURS μl	TÉMOINS POUR LES ÉCHANTILLONS μl
Calibrateurs (0 à 5) Échantillons, Témoins Traceur Anti-T3	— — 200 —	50 — 200 100	— 50 200 100
Incubation	1 heure à température ambiante en agitant constamment		
Séparation Solution de lavage de travail : Séparation	—	Aspirer (ou décanter) 2,0 ml Aspirer (ou décanter)	
Comptage	Compter les tubes pendant 60 secondes		



de

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

## T3-RIA-CT

### I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem 3,5,3' Trijodthyronin (T3) in Serum.

### II. ALLGEMEINE INFORMATION

A. Handelsbezeichnung : DIAsource T3-RIA-CT Kit

B. Katalognummer : KIP1631 : 96 Tests

C. Hergestellt von : DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)10 84.99.11                      Fax : +32 (0)10 84.99.91

### III. KLINISCHER HINTERGRUND

#### A. Biologische Aktivität

Die Schilddrüse hat starken und essentiellen regulatorischen Einfluß auf das Wachstum, die Differenzierung, den Zellmetabolismus und die generelle hormonelle Balance, genauso wie für die Erhaltung der metabolischen Aktivität und die Entwicklung des Skelett- und Organsystems.

Die Hormone Thyroxin (T4) und 3,5,3' TrijodThyronin (T3) zirkulieren im Blutkreislauf, zumeist gebunden an das Plasmaprotein TBG (Thyroxin bindendes Globulin). Die Konzentration von T3 ist sehr viel geringer als die von T4, aber dessen metabolisches Potential ist viel größer.

#### B. Klinische Anwendungen

Die T3 Bestimmung ist ein wichtiger Faktor bei der Diagnose von Schilddrüsenerkrankungen. Die Messung hat zur Entdeckung einer Variante von Hyperthyroidismus bei thyrotoxischen Patienten mit erhöhten T3 Spiegeln und normalen T4 Spiegeln geführt. Ein Anstieg von T3 ohne Anstieg von T4 ist häufig ein Vorläufer einer wiederauftretenden Thyrotoxikose bei vorbehandelten Patienten. Bei anderen Patienten ist Euthyroidismus dem normalen T3 zuzuordnen, obwohl die T4 Spiegel subnormal sind.

Die T3 Bestimmung ist ebenfalls sinnvoll beim Monitoring von Patienten die gegen Hyperthyroidismus behandelt werden und bei Patienten, die ihre Anti-Thyroid Behandlung unterbrochen haben. Dieses ist besonders wertvoll bei der Unterscheidung zwischen euthyroiden Personen.

Bei Frauen sind die T3 Spiegel in der Schwangerschaft, während einer Östrogenbehandlung und bei emfängnisverhütender Hormontherapie erhöht. Wenn die T3 Spiegel parallel zu TBG ansteigen, analog zu den T4 Spiegeln, sind diese Änderungen nicht Hinweis auf einen veränderten Schilddrüsen Status.

#### IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Eine bestimmte Menge an  $^{125}\text{I}$  markiertem T3 konkurriert mit dem zu messenden T3 der Probe oder des Kalibrators um die festgelegte Menge an Anti-T3 Antikörperbindungsstellen des Ziege Anti-Maus Antikörpers, der an die Wand der Polystyrolröhre gebunden ist. Nach 1 Stunde Inkubation bei Raumtemperatur, beendet das Absaugen die Verdrängungsreaktion. Die Röhrchen werden anschliessend mit Waschlösung gewaschen, danach wird nochmals abgesaugt. Eine Standardkurve wird gedruckt und die T3-Konzentrationen der Proben werden über Dosis Interpolation der Kalibrationskurve bestimmt.

#### V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenz	96 Tests Kit	Farbcode	Rekonstitution
Mit GAM (Ziege Anti-Maus) beschichtete Röhrchen 	2 x 48	Schwarz	gebrauchsfertig
Ag 125I	1 Gefäß 21 ml 111 kBq	Rot	gebrauchsfertig
TRACER: $^{125}\text{Iod}$ -markiertes T3 (HPLC grade) in Phosphatpuffer mit Rindercasein und Azid (<0,1%)	1 Gefäß lyophilisiert	Gelb	0,5 ml dest. Wasser zugeben
CAL 0 Null-Kalibrator: Humanserum und Thymol	5 Gefäße lyophilisiert	Gelb	0,5 ml dest. Wasser zugeben
CAL N Kalibratoren - N = 1 bis 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Humanserum und Thymol	1 Gefäß lyophilisiert	Blau	11 ml dest. Wasser zugeben
Ab Anti-T3 Antikörper (monoclonal) in Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin und Thymol	1 Gefäß 10 ml	Braun	70x mit dest. Wasser (Magnetrührer verwenden) verdünnen
WASH SOLN CONC Waschlösung (TRIS-HCl)	2 vials lyophilisiert	Silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben
CONTROL N Kontrollen - N = 1 oder 2 in Humanplasma mit Thymol			

**Achtung:** Benutzen Sie den Null-Kalibrator zur Serumverdünnung

#### VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

- Dest. Wasser
- Pipetten: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl und 2 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen wird empfohlen)
- Vortexmixer
- Magnetrührer
- RöhrchenSchüttler (700 upm)
- 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
- Absaugsystem (optional)
- Jeder Gamma-Counter, der  $^{125}\text{I}$  messen kann, kann verwendet werden. (minimale Ausbeute 70%)

#### VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Kalibratoren:** Rekonstituieren Sie den Null-Kalibrator mit 0,5 ml aqua dest. und die anderen Kalibratoren mit 0,5 ml destilliertem Wasser.
- Kontrollen:** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml dest. Wasser.
- Anti T3:** Rekonstituieren Sie das Anti T3 mit 11 ml aqua dest.
- Waschlösung:** Zur Vorbereitung eines angemessenen Volumens nutzbarer Waschlösung, mischen Sie zu einem Volumen Waschlösung (70x) 69

Volumen destilliertes Wasser. Benutzen Sie einen Magnetrührer. Entsorgen Sie nach jedem Arbeitstag die überflüssige Waschlösung.

#### VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen und Rekonstituieren sind alle Kitkomponenten bei 2 bis 8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren eine Woche bei 2 bis 8°C stabil, Kontrollen 4 Tage bei 2 bis 8°C stabil. Für eine längere Aufbewahrung sollten diese Reagenzien aliquotiert und bei -20°C eingefroren werden während max. 3 Monaten. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Nach der Rekonstituierung sind die Anti T3 Antikörper für 3 bis 6 Wochen bei 2-8°C stabil. **NICHT EINFRIEREN!**
- Die Waschlösung sollte frisch hergestellt und am selben Tag aufgebraucht werden.
- Wenn der Tracer nach der ersten Benutzung wieder im gutverschlossenen Originalgefäß bei 2 bis 8°C aufbewahrt wird, ist er bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können auf Instabilität bzw. Zerfall hindeuten.

#### IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serumproben müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, müssen die Proben bei -20°C aufgehoben werden.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

#### DURCHFÜHRUNG

##### A. Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach dem Verfallsdatum.  
Vermischen Sie nie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen.  
Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.  
Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren.  
Verwenden Sie saubere Einwegpipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden. Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision.  
Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.  
Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrationskurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

##### B. Durchführung

- Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Kontrolle und jede Probe. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
- Vortexen Sie Kalibratoren, Kontrollen und Proben kurz und geben Sie 50 µl von jedem in ihre Röhrchen.
- Geben Sie 200 µl des  $^{125}\text{Iod}$ -markierten T3 in jedes Röhrchen, einschließlich der unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtaktivität.
- Dispensieren Sie 100µl Anti T3 in jedes Röhrchen mit Ausnahme der Röhrchen für die Gesamtaktivität.
- Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
- Inkubieren Sie 1 Stunde bei Raumtemperatur unter kontinuierlichem Schütteln.
- Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
- Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
- Lassen Sie die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen, und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
- Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter über 60 Sekunden aus.

#### XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- Berechnen Sie die gebundene Radioaktivität als Prozentsatz des am Null-Kalibratorpunkt (0) bestimmten Wertes nach folgender Formel:

$$\text{B/B0} (\%) = \frac{\text{Aktivität (Kalibrator oder Probe)}}{\text{Aktivität (Null-Kalibrator)}} \times 100$$

- Verwenden Sie semi-logarithmisches oder doppelt-logarithmisches Millimeterpapier (über 3 Größenordnungen), tragen Sie die (B/B0(%))-

Werte für jeden Kalibratorpunkt ein als Funktion der T3 Konzentration für jeden Kalibratorpunkt. Schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.

4. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer, 4 Parameter-Kurvenfunktion.
5. Bestimmen Sie die T3 Konzentrationen der Proben durch Interpolation der Probenwerte (B/B0(%)) aus der Referenzkurve.
6. Bei jedem Assay muss der Prozentsatz des gesamten gebundenen Tracers ohne unmarkiertes T3 (B0/T) geprüft werden

## XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitkalibrationskurve verwendet werden.

T3	cpm	B/Bo (%)
Gesamtaktivität	40019	
Kalibrator		
0,00 nmol/l	28572	100,0
0,35 nmol/l	24781	86,7
1,00 nmol/l	18112	63,4
2,50 nmol/l	10587	37,1
6,50 nmol/l	4629	16,2
14,00 nmol/l	2684	9,4

## XII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

### A. Nachweisgrenze

Die Grenzen von Leerwert (LoB), von Nachweis (LoD) und von Quantifizierung (LoQ) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI Richtlinie EP17-A bestimmt

LoB wurde durch mehrfache Messung des Leerwertes und durch Kalkulation von 95 Prozent der Verteilung der Testwerte ermittelt. Der Leerwert wurde mit 0,15 nmol/l bestimmt.

Die LoD wurde, wie in der Richtlinie beschrieben kalkuliert. Die LoD wurde mit 0,22 nmol/l bestimmt.

LoQ wurde durch Testung von 5 Proben mit niedrigem Wert in verschiedenen Tests 14 mal ermittelt. LoQ wurde bei einem CV von 20% als 0,22 nmol/l bestimmt.

### B. Spezifität

Der Prozentsatz der Kreuzreaktion, der im Vergleich der Konzentration geschätzt wurde, welche eine 50%ige Inhibition ergibt, beträgt respektive:

Substanz	Kreuzreakтивität (%)
L-3,3',5-Trijodthyronin (L-T3)	100
3,3',5'-Trijodthyronin (rT3)	NN
L-Thyroxin (L-T4)	0,17
D-Thyroxin (D-T4)	0,04
3,3',5 - Trijodthyroessigsäure (TRIAC)	52
3,5-Dijod-LThyrosin	0,22

NN: nicht nachweisbar

**Bemerkung:** Diese Tabelle zeigt die Kreuzreaktivität für die anti T3

### C. Präzision

#### INTRA-ASSAY PRÄZISION

#### INTER-ASSAY PRÄZISION

Serum	N	$\text{\langle X \rangle \pm SD (nmol/l)}$	CV (%)	Serum	N	$\text{\langle X \rangle \pm SD (nmol/l)}$	CV (%)
A	10	$1,06 \pm 0,05$	4,7	A	10	$1,22 \pm 0,05$	3,7
B	10	$5,49 \pm 0,31$	5,6	B	10	$5,43 \pm 0,16$	3,0

SD: Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

## D. Genauigkeit

### VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünnung	Theoretische Konzent. (nmol/l)	Gemessene Konzent. (nmol/l)
A	1/1	-	12,29
	1/2	6,15	5,67
	1/4	3,07	2,98
	1/8	1,54	1,42
	1/16	0,77	0,72

Die Proben wurden mit Null-Kalibrator verdünnt.

### WIEDERFINDUNGSTEST

Probe	Zugeg. T3 (nmol/l)	Wiedergef. T3 (nmol/l)	Wiedergefunden (%)
1	1	0,89	89%
	2	2,1	105%
	4	4,37	109%
	8	8,17	102%
	12	14,47	120%

Laut unserem Wissen, gibt es keine internationale Referenzen zu diesen Parametern.

### E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im Folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann gewährleistet ist, wenn die Probe 60 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugegeben wird.

### ZEITDIFFERENZ

Serum nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	1,04	1,07	1,05	1,10
C 2	5,15	5,74	6,13	5,76

## XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können diese Werte, ohne treffende Erklärung für die Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

## XV. ZU ERWARTENDER BEREICH

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

Die T3 Konzentrationen für unbehandelte euthyroide Personen liegen zwischen 1,7 bis 2,9 nmol/L (n=80).

## XVI. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

### Sicherheit

Nur für *in vitro* diagnostische Zwecke.

Dieser Kit enthält  $^{125}\text{I}$  (Halbwertzeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und  $\gamma$  (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausrüstung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern.

Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den

lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.  
Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in den USA erprobten FDA-Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAg, anti-HCV und anti-HIV-1 und -2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit darüber liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serumproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Kindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde. Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potentiell ansteckend behandelt werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschriften den Abfluß gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Tragen Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

#### XVII. LITERATUR

1. LARSEN, P.R. (1972)  
**Triiodothyronine : Review of Recent Studies of its Physiology and Pathophysiology in Man.**  
Metabolism, 21, 1073-1092.
2. UTIGER, R.D. (1974)  
**Serum Triiodothyronine in Man.**  
Ann. Rev. Med., 25, 289-302.
3. HOLLANDER, C.S., et al. (1972)  
**Clinical Laboratory Observation in Cases of T3 Toxicosis Confirmed by Radioimmunoassay.**  
Lancet., 1, 609-611.
4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970)  
**T3 thyrotoxicosis ; Thyrotoxicosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.**  
Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.
5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK - NIELSEN, K. (1974)  
**Acta - Endocrinol.**  
77, 71.

#### XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT-AKTIVITÄT ( $\mu$ l)	KALIBRA-TOREN ( $\mu$ l)	PROBE(N)-KONTROLLEN ( $\mu$ l)
Kalibratoren (0 to 5)	-	50	-
Proben, Kontrollen	-	-	50
Tracer	200	200	200
Anti-T3	-	100	100
Inkubation	1 Stunde bei Raumtemperatur unter permanentem Schütteln		
Separation Waschlösung Separation	-	Absaugen (oder dekantieren) 2,0 ml Absaugen (oder dekantieren)	
Auswertung	Messen der Röhrchen 60 Sekunden		



it

Prima di utilizzare il kit leggere attentamente le istruzioni per l'uso

## T3-RIA-CT

### I. USO DEL KIT

Kit radioimmunologico per la determinazione quantitativa in vitro della triiodotironina 3-5-3' umana (T3) nel siero.

### II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE

A. Nome commerciale: DIAsource T3-RIA-CT Kit

B. Numero di catalogo: KIP1631: 96 test

C. Prodotto da: DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:

Tel: +32 (0)10 84.99.11

Fax: +32 (0)10 84.99.91

### III. INFORMAZIONI CLINICHE

#### A. Attività biologiche

La ghiandola tiroidea esercita un forte e importante effetto regolatore su crescita, differenziazione, metabolismo cellulare, equilibrio ormonale, mantenimento dell'attività metabolica, nonché sviluppo del sistema scheletrico e di vari apparati organici. Gli ormoni tiroxina (T4) e triiodotironina 3-5-3' (T3) circolano nel flusso sanguigno principalmente legate ad una plasma proteina, la globulina legante la tiroxina (TBG). La concentrazione di T3 è molto minore rispetto alla T4, ma la sua potenza metabolica è molto maggiore.

#### B. Applicazioni cliniche

Il livello di T3 è un parametro fondamentale nella diagnosi delle malattie tiroidee. La sua determinazione ha evidenziato una variante di ipertiroidismo in pazienti tireotossici che presentano livelli di T3 elevati e livelli di T4 normali. In pazienti precedentemente trattati, un aumento di T3 non associato ad aumento di T4 è frequentemente foriero di una recidiva della tirotossicosi. In altri casi, l'eutiroroidismo risulta attribuibile a presenza di livelli di T3 normali, ma livelli di T4 ridotti.

Il dosaggio di T3 si rivela utile, inoltre, per il monitoraggio sia di pazienti ipertiroidi in corso di trattamento che di soggetti che abbiano interrotto la terapia farmacologica antitiroidea. Esso si rivela, inoltre, particolarmente utile per la distinzione tra soggetti eutiroidei.

Nelle donne, i livelli di T3 sono elevati durante la gravidanza e in corso di terapie estrogeniche e contraccettive ormonali. Quando i livelli di T3 corrono paralleli ad aumenti di TBG, con andamento analogo ai livelli di T4, si tratta di variazioni che non riflettono un'alterazione dello stato tiroideo.

#### IV. PRINCIPIO DEL METODO

Una quantità fissa di T3 marcato con  $^{125}\text{I}$  compete con la T3 da quantificare presente nel campione o nel calibratore, per una quantità fissa di siti anticorpali anti-T3 legati ad anticorpi di capra anti-topo adesi alla parete di provette di polistirene. Dopo un'incubazione di un'ora a temperatura ambiente, la fase di aspirazione pone termine alla reazione di competizione. Le provette vengono quindi lavate con 2 ml di soluzione di lavaggio e nuovamente aspirate. Viene quindi tracciata la curva di calibrazione, da cui per interpolazione si ottengono i valori di concentrazione di T3 nei campioni.

#### V. REATTIVI FORNITI

Reattivi	Kit da 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione
Provette sensibilizzate con GAM (capra anti-topo)	2 x 48	nero	Pronte per l'uso
Ag <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">125I</span>	1 flacone 21 ml 111 kBq	rosso	Pronte per l'uso
Marcato: T3 marcato con $^{125}\text{I}$ (grado HPLC), in tampone fosfato con caseina bovina e sodio azide (<0,1%)			
CAL 0	1 flacone Liofiliz.	giallo	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata
Calibratore Zero in siero umano e timolo.			
CAL N	5 flaconi Liofiliz.	giallo	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata
Calibratori N. 1-5 (vedi valori esatti sulle etichette dei flaconi) in siero umano e timolo			
Ab	1 flacone Liofiliz.	blu	Aggiungere 11 ml di acqua distillata
Anticorpi anti-T3 (monoclonali) in tampone fosfato con albumina di siero bovino e timolo			
WASH SOLN CONC	1 flacone 10 ml	bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
Wash solution (TRIS-HCl)			
CONTROL N	2 flaconi Liofiliz.	argento	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata
Controlli: N = 1 o 2, in plasma umano con timolo			

**Nota :** Per la diluizione, utilizzare il calibratore Zero.

#### VI. REATTIVI NON FORNITI

Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.

- Acqua distillata.
- Pipette per dispensare 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$ , 500  $\mu\text{l}$  e 2 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
- Agitatore tipo vortex.
- Agitatore magnetico.
- Agitatore rotante (700rpm)
- Pipetta a ripetizione automatica 5 ml per i lavaggi. (Tipo Cornwell)
- Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
- Contatore gamma con finestra per  $^{125}\text{I}$  (efficienza minima 70%)

#### VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- Calibratore:** Ricostituire il calibratore Zero con 0,5 ml di acqua distillata e gli altri calibratori con 0,5 ml di acqua distillata.
- Controlli:** Ricostituire i controlli con 0,5 ml di acqua distillata.
- Anti-T3:** Ricostituire l'anti-T3 con 11 ml di acqua distillata.
- Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 69 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato

(70x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

#### VIII. CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- I reattivi non utilizzati sono stabili a 2-8°C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- Dopo ricostituzione, i calibratori sono stabili 7 giorni a 2-8°C e controlli sono stabili 4 giorni a 2-8°C. Per mantenere i calibratori e controlli molto tempo suddivisi in aliquote e guardare -20°C per maximum 3 mesi. Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelamento.
- Dopo ricostituzione, gli anticorpi anti-T3 rimangono stabili per 6 settimane a 2-8°C. **NON CONGELARE.**
- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Dopo apertura del flacone, il marcato è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato a 2-8°C nel flacone originale ben tappato.
- Alterazioni dell'aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

#### IX. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Conservare i campioni di siero a 2-8°C.
- Se non si desidera eseguire il dosaggio entro 24 ore dal prelievo, si raccomanda di conservare i campioni a -20°C.
- Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelamento dei campioni.

#### X. METODO DEL DOSAGGIO

##### A. Avvertenze generali

Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare reattivi di lotti diversi. Prima dell'uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente. Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione. Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usa un nuovo reattivo o campione. L'uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio. Rispettare i tempi di incubazione. Allestire una curva di taratura per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di taratura di sedute analitiche precedenti.

##### C. Metodo del dosaggio

- Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplice ogni calibratore, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.
- Agitare brevemente su vortex calibratore, campioni e controlli. Dispensare 50  $\mu\text{l}$  di calibratore, campioni e controlli nelle rispettive provette.
- Dispensare 200  $\mu\text{l}$  di T3 marcato con  $^{125}\text{I}$  in tutte le provette, comprese quelle per l'attività totale.
- Distribuire 100  $\mu\text{l}$  di anti-T3 in ogni provetta, escluse quelle per l'attività totale.
- Scuotere gentilmente il portaprovette per liberare eventuali bolle d'aria intrappolate nel liquido contenuto nelle provette.
- Incubare per un'ora a temperatura ambiente su agitatore.
- Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale, facendo attenzione che il puntale dell'aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
- Lavare tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
- Lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residuo.
- Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

#### XI. CALCOLO DEI RISULTATI

- Calcolare la media delle determinazioni in duplice.
- Calcolare la radiattività legata come percentuale di legame determinata al punto di calibrazione zero (0) secondo la seguente formula:

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{cpm (Calibratore, campioni o controlli)}}{\text{cpm (Zero Calibratore)}} \times 100$$

- Usando carta semilogaritmica a 3 cicli o logit-log e ponendo in ordinata i rapporti di competizione. B/B<sub>0</sub> (%) per ogni calibratore e in ascissa le rispettive concentrazioni di T3, tracciare la curva di taratura, scartare i valori palesemente discordanti.

4. È possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.
5. Per interpolazione sulla curva di taratura dei rapporti di competizione di campioni e controlli, determinare le rispettive concentrazioni di T3.
6. Per ogni dosaggio determinare la capacità legante B0/T.

## XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

I sotto riportati sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di T3 in campioni e controlli al posto della curva calibratore eseguita contemporaneamente.

T3	cpm	B/Bo (%)
Attività totale	40019	
Calibratore		
0,00 nmol/l	28572	100,0
0,35 nmol/l	24781	86,7
1,00 nmol/l	18112	63,4
2,50 nmol/l	10587	37,1
6,50 nmol/l	4629	16,2
14,00 nmol/l	2684	9,4

## XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

### A. Sensibilità

Il limite del bianco (LoB), il limite di rilevazione (LoD) e il limite di quantizzazione (LoQ) sono stati stabiliti secondo le linee guida CLSI EP17-A.

Il LoB è stato calcolato misurando più volte il bianco e calcolando il 95° percentile della distribuzione dei valori dei test. Il LoB è risultato essere pari a 0,15 nmol/l.

Il LoD è stato calcolato come descritto nelle linee guida. Il LoD è risultato essere pari a 0,22 nmol/l.

Il LoQ è stato calcolato analizzando per 14 volte in test diversi 5 campioni dai quali erano stati ottenuti valori bassi. Il LoQ è risultato essere pari a 0,22 nmol/l con un CV del 20%.

### B. Specificità

Le percentuali di cross-reactività stimata rispetto alla concentrazione in grado di produrre un'inibizione al 50% sono rispettivamente:

Composto	Cross-Reattività (%)
L-3,3',5 - triiodothyronine (L-T3)	100
3,3',5' - triiodothyronine (rT3)	ND
L-thyoxine (L-T4)	0,17
D-thyoxine (D-T4)	0,04
3,3',5 - triiodothyroacetic acid (TRIAC)	52
3,5 - diido-L-tyrosine	0,22

ND = non dosabile

Nota : questa tabella mostra la cross-reactività relativa all'anti T3.

### C. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	$\bar{X} \pm SD$ (nmol/L)	CV (%)	Siero	N	$\bar{X} \pm SD$ (nmol/L)	CV (%)
A	10	1,06 ± 0,05	4,7	A	10	1,22 ± 0,05	3,7
B	10	5,49 ± 0,31	5,6	B	10	5,43 ± 0,16	3,0

SD : Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

## D. Accuratezza

### TEST DI DILUIZIONE

Campione	Diluizione	Concentrazione teorica (nmol/l)	Concentrazione misurata (nmol/l)
A	1/1	-	12,29
	1/2	6,15	5,67
	1/4	3,07	2,98
	1/8	1,54	1,42
	1/16	0,77	0,72

I campioni sono stati diluiti con calibratore zero.

### TEST DI RECUPERO

Campione	T3 aggiunto (nmol/L)	T3 recuperato (nmol/L)	Recupero (%)
1	1	0,89	89%
	2	2,1	105%
	4	4,37	109%
	8	8,17	102%
	12	14,47	120%

A quanto risulta, non esiste alcun riferimento internazionale per tale parametro.

### E. Tempo trascorso tra laggiunta dellultimo calibratore e il campione

Come mostrato nella seguente tabella, il dosaggio si mantiene accurato anche quando un campione viene aggiunto nelle provette sensibilizzate 60 minuti dopo laggiunta del calibratore.

TEMPO TRASCORSO				
Siero nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	1,04	1,07	1,05	1,10
C 2	5,15	5,74	6,13	5,76

## XIV. CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all'interno dei limiti riportati sull'etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente.
- Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote.
- I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.

## XV. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Questi valori sono puramente indicativi, ciascun laboratorio potrà stabilire i propri intervalli normali.

Le concentrazioni di T3 in soggetti eutiroidei non trattati variavano tra 1,7 e 2,9 nmol/l (n=80).

## XVI. PRECAUZIONI PER L'USO

### Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro.

Il kit contiene  $^{125}\text{I}$  (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e  $\gamma$  (35,5 keV) ionizzanti.

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.

Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni.

Evitare ogni contatto dell'epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

#### XVII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. LARSEN, P.R. (1972)  
**Triiodothyronine : Review of Recent Studies of ist Physiology and Pathophysiology in Man.**  
Metabolism, 21, 1073-1092.
2. UTIGER, R.D. (1974)  
**Serum Triiodothyronine in Man.**  
Ann. Rev. Med., 25, 289-302.
3. HOLLANDER, C.S., *et al.* (1972)  
**Clinical Laboratory Observation in Cases of T3 Toxicosis Confirmed by Radioimmunoassay.**  
Lancet., !, 609-611.
4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970)  
**T3 thyrotoxicosis ; Thyrotoxicosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.**  
Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.
5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK – NIELSEN, K. (1974)  
**Acta – Endocrinol.**  
77, 71.

#### XVIII. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	Attività totale µl	Calibratore µl	Campioni Controlli µl
Calibratore (0-5)	-	50	-
Campioni, Controlli	-	-	50
Marcato	200	200	200
Anti T3	-	100	100
Incubazione	60 minuti a temperatura ambiente su agitatore		
Separazione Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio Separazione		Aspirare (o decantare) 2 ml	Aspirare (o decantare)
Conteggio	Contare le provette per 1 minuto		



es

Leer el protocolo completo antes de usar.

## T3-RIA-CT

### I. INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de 3,5,3' triyodotironina (T3) humana en suero.

### II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. **Nombre:** DIAsource T3-RIA-CT Kit
- B. **Número de Catálogo:** KIP1631 : 96 pruebas
- C. **Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Para cuestiones técnicas e información sobre pedidos contactar :  
Tel : +32 (0)10 84.99.11                  Fax : +32 (0)10 84.99.91

### III. INFORMACIÓN CLÍNICA

#### A. Actividad biológica

La glándula tiroides ejerce una influencia fuerte y esencial sobre el crecimiento, la diferenciación, el metabolismo celular y el equilibrio hormonal general, así como sobre el mantenimiento de la actividad metabólica y el desarrollo del sistema esquelético y orgánico.

Las hormonas tiroxina (T4) y 3,5,3' triyodotironina (T3) circulan por el torrente sanguíneo, principalmente unidas a la proteína plasmática globulina de unión a tiroxina (TBG). La concentración de T3 es mucho menor que la de T4, pero su potencia metabólica es mucho mayor.

#### B. Aplicaciones clínicas

La determinación de T3 es un factor importante en el diagnóstico de una enfermedad tiroidea. Su medición ha revelado una variante de hipertiroidismo en pacientes tirotóxicos con niveles elevados de T3 y niveles normales de T4. Un aumento de T3 sin aumento de T4 es con frecuencia pronóstico de una tirotoxicosis recurrente en pacientes previamente tratados. En otros pacientes, el eutiroidismo es atribuible a unos niveles normales de T3, aunque sus valores de T4 estén por debajo de lo normal.

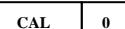
La determinación de T3 también es útil para controlar tanto a pacientes en tratamiento para hipertiroidismo como para pacientes que han dejado su terapia farmacológica antitiroidea. Es especialmente útil en la distinción de sujetos eutiroideos.

En mujeres, los niveles de T3 se elevan durante el embarazo, durante un tratamiento estrogénico y al tomar una terapia hormonal anticonceptiva. Cuando los niveles de T3 aumentan en paralelo con la TBG de forma análoga a los niveles de T4, estos cambios no reflejan un estado tiroideo alterado.

#### IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

Una cantidad fija de T3 marcada con  $I^{125}$  compite con el T3 a medir, presente en la muestra o en el calibrador, para una cantidad fija de sitios de anticuerpo anti-T3, que se unen a los anticuerpos de cabra anti-ratón, inmovilizado en las paredes de un tubo de poliestireno. Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente, una aspiración termina con la reacción de competición. Los tubos se lavan con 2 ml de Solución de lavado y se aspiran otra vez. Se dibuja la curva de calibración y las concentraciones de T3 de las muestras se determinan por interpolación de la dosis en la curva de calibración.

#### V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	Kit 96 pruebas	Código de Color	Reconstitución
Tubos recubiertos con GAM (cabra anti-ratón)	2 x 48	negro	<b>Listo para uso</b>
 Ag 	1 vial 21 ml 111 kBq	rojo	<b>Listo para uso</b>
TRAZADOR: T3 marcado con $I^{125}$ (grado HPLC) en tampón fosfato con caseína bovina y azida (<0,1%)			
 CAL 0	1 vial lioofilizados	amarillo	<b>Añadir 0,5 ml de agua destilada</b>
Calibrador cero en suero humano con timol			
 CAL N	5 viales lioofilizados	amarillo	<b>Añadir 0,5 ml de agua destilada</b>
Calibradores - N = 1 al 5 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero humano con timol			
 Ab	1 vial lioofilizado	azul	<b>Añadir 11 ml de agua destilada</b>
Anticuerpos anti-T3 (monoclonales) en tampón fosfato con albúmina de suero bovino y timol			
 WASH SOLN CONC	1 vial 10 ml	marrón	<b>Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)</b>
Solución de lavado (TRIS-HCl)			
 CONTROL N	2 viales lioofilizados	plateado	<b>Añadir 0,5 ml de agua destilada</b>
Controles - N = 1 ó 2 en plasma humano con timol			

Nota: Para diluciones de muestras utilizar calibrador cero.

#### VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no está incluido en el kit

- Agua destilada
- Pipetas de 50  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 500  $\mu$ l y 2 ml (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
- Vortex
- Agitador magnético
- Agitador de tubos (700 rpm)
- Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
- Sistema de aspiración (opcional)
- Contador de radiaciones gamma para medir  $I^{125}$  (mínima eficiencia 70%)

#### VII. PREPARACIÓN REACTIVOS

- Calibradores:** Reconstituir los calibradores con 0,5 ml de agua destilada.
- Controles:** Reconstituir los controles con 0,5 ml de agua destilada.
- Anti-T3:** Reconstituir el anti-T3 con 11 ml de agua destilada.
- Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para

homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

#### VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir o reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8 °C.
- Después de su reconstitución los calibradores son estables durante una semana a 2-8 °C, los controles son estables durante 4 días a 2-8 °C. Para períodos más largos, alicuotar y guardar a -20 °C. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- Después de la reconstitución, los anticuerpos anti-T3 son estables durante 6 semanas a 2-8 °C. **NO CONGELAR.**
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Después del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2-8 °C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad o deterioro.

#### IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero deben ser guardadas a 2-8 °C.
- Si el ensayo no se realiza en 24 hrs., almacenar las muestras a -20°.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

#### X. PROTOCOLO

##### A. Notas de manejo

No utilizar el kit o componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente número de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso. Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra. El uso de pipetas de precisión o equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación. Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

##### B. Protocolo

- Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
- Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 50  $\mu$ l de cada uno en sus respectivos tubos.
- Dispensar 200  $\mu$ l de T3 marcado con  $I^{125}$  en cada tubo, incluyendo los tubos no recubiertos a las Cuentas Totales.
- Dispensar 100  $\mu$ l de anti-T3 en cada tubo, salvo en los tubos de recuento total.
- Agitar suavemente la gradilla de tubos para soltar cualquier burbuja cautiva de las paredes de los tubos.
- Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación continua.
- Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
- Lavar los tubos con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado
- Dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el líquido restante.
- Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

#### XI. CALCULO DE RESULTADOS

- Calcular la media de los duplicados.
- Calcular la radioactividad enlazada como un porcentaje de la unión con respecto al calibrador cero (0) de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{Cuentas (Calibrador r ó muestra)}}{\text{Cuentas (Calibrador Cero)}} \times 100$$

- Utilizando papel 3 ciclo semilogarítmico o logit-log, representar los valores de (B/B<sub>0</sub>)% de cada calibrador frente a las contracciones del T3 de cada calibrador, rechazando los extremos claros.

4. Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de cálculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica "4 parámetros".
5. Por interpolación de los valores (B/B%) de las muestras, se determinan los valores de las concentraciones del T3 de las mismas desde la curva de calibración.
6. El porcentaje total de enlace del trazador en ausencia de T3 no marcado (B<sub>0</sub>/T) debe ser calculado en cada ensayo.

## XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

T3	cpm	B/Bo (%)
Cuentas Totales	40019	
Calibrador		
0,00 nmol/l	28572	100,0
0,35 nmol/l	24781	86,7
1,00 nmol/l	18112	63,4
2,50 nmol/l	10587	37,1
6,50 nmol/l	4629	16,2
14,00 nmol/l	2684	9,4

## XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

### A. Límite de detección

El Límite del Blanco (LoB), el Límite de Detección (LoD) y el Límite de Cuantificación (LoQ) se determinaron según la directriz EP17-A del CLSI.

El LoB se calculó midiendo el blanco varias veces y calculando el percentil 95 de la distribución de los valores de la prueba. El cálculo determinó que el LoB fue 0,15 nmol/l.

El LoD se calculó como se describe en la directriz. El cálculo determinó que el LoD fue 0,22 nmol/l.

El LoQ se calculó analizando cinco muestras de baja concentración 14 veces en pruebas diferentes. El cálculo determinó que el LoQ fue 0,22 nmol/l con un CV de 20%.

### B. Especificidad

El porcentaje de reacción cruzada estimada por la comparación de la concentración (indicando una inhibición de 50 %) es respectivamente :

Componente	Reacción-cruzada (%)
L-3,3',5 - triyodotironina (L-T3)	100
3,3',5' - triyodotironina (rT3)	ND
L- tiroxina (L-T4)	0,17
D-tiroxina (D-T4)	0,04
3,3',5 - ácido triyodotiroacético (TRIAC)	52
3,5 - diyodo-L-tirosina	0,22

ND : no es detectable

**Nota:** Esta tabla presenta la reacción cruzada para el anti T3

### C. Precisión

#### PRECISION INTRA-ENSAYO

Suero	N	$\text{\langle X \rangle \pm SD (nmol/l)}$	CV (%)	Suero	N	$\text{\langle X \rangle \pm SD (nmol/l)}$	CV (%)
A	10	1,06 ± 0,05	4,7	A	10	1,22 ± 0,05	3,7
B	10	5,49 ± 0,31	5,6	B	10	5,43 ± 0,16	3,0

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

### D. Exactitud

#### PRUEBA DE DILUCIÓN

Muestra	Dilución	Concent. Teórica (nmol/l)	Concent. Medida ( $\mu\text{g/dl}$ )
A	1/1	-	12,29
	1/2	6,15	5,67
	1/4	3,07	2,98
	1/8	1,54	1,42
	1/16	0,77	0,72

Las muestras fueron diluidas con el Calibrador cero.

#### PRUEBA DE RECUPERACIÓN

Muestra	T3 añadido (nmol/l)	T3 Recuperado (nmol/l)	Recuperado (%)
1	1	0,89	89%
	2	2,1	105%
	4	4,37	109%
	8	8,17	102%
	12	14,47	120%

De acuerdo con nuestros conocimientos, no existe ninguna preparación de referencia internacional de este parámetro.

### E. Tiempo de espera entre la dispensación del último calibrador y la de la muestra

Como se muestra a continuación la precisión del ensayo se mantiene incluso en el caso de dispensar la muestra 60 minutos después de haberse adicionado el calibrador a los tubos cubiertos.

#### TIEMPO DE ESPERA

Suero (nmol/l)	0'	20'	40'	60'
C 1	1,04	1,07	1,05	1,10
C 2	5,15	5,74	6,13	5,76

## XIV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, lo cuales se guardan en alícuotas congeladas.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados in duplo de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

## XV. INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.

Las concentraciones de T3 en sujetos eutiroideos sin tratar oscilan entre 1,7 a 2,9 nmol/l (n=80).

## XVI. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

### Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I<sup>125</sup> (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35,5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido analizados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA u otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes que contengan substancias animales deberán ser considerados como potencialmente infecciosos.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer o utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetejar con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

## XVII. BIBLIOGRAFIA

1. LARSEN, P.R. (1972)  
**Triiodothyronine : Review of Recent Studies of ist Physiology and Pathophysiology in Man.**  
Metabolism, 21, 1073-1092.
2. UTIGER, R.D. (1974)  
**Serum Triiodothyronine in Man.**  
Ann. Rev. Med., 25, 289-302.
3. HOLLANDER, C.S., *et al.* (1972)  
**Clinical Laboratory Observation in Cases of T3 Toxicosis Confirmed by Radioimmunoassay.**  
Lancet.., !, 609-611.
4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970)  
**T3 thyrotoxicosis ; Thyrotoxicosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.**  
Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.
5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK – NIELSEN, K. (1974)  
**Acta – Endocrinol.**  
77, 71.

## XVIII. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	RECUENTOS TOTALES ( $\mu$ l)	CALIBRADO RES ( $\mu$ l)	MUESTRA(S) CONTROL(S) ( $\mu$ l)
Calibradores (0 al 5)	-	50	-
Muestras, controles	-	-	50
Trazador	200	200	200
Anti-T3	-	100	100
Incubación	1 hora a temperatura ambiente con agitación continua		
Separación	-	Aspirar (o decantar) 2,0 ml	
Solución de lavado de trabajo	-	Aspirar (o decantar)	
Separación	-	Aspirar (o decantar)	
Recuento	Contar los tubos durante 60 segundos		

CE

el

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

## T3-RIA-CT

### I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ραδιοανοσοπροσδιορισμός για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης 3,5,3' τριϊωδοθυρονίνης (T3) στον ορό.

### II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

A. Εμπορική ονομασία: Kit T3-RIA-CT της DIAsource

B. Αριθμός καταλόγου: KIP1631: 96 προσδιορισμοί

C. Κατασκευάζεται από την: DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:  
Τηλ.: +32 (0)10 84.99.11 Φαξ: +32 (0)10 84.99.91

### III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

#### A. Βιολογική δράση

Ο θυρεοειδής αδένας ασκεί ισχυρές και σημαντικές ρυθμιστικές επιρροές στην ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση, τον κυτταρικό μεταβολισμό και τη γενική ορμονική ισορροπία, καθώς και στη συντήρηση της μεταβολικής δράσης και την ανάπτυξη του σκελετικού συστήματος και του συστήματος των οργάνων.

Οι ορμόνες θυροξίνη (T4) και 3,5,3' τριϊωδοθυρονίνη (T3) κυκλοφορούν στη ροή του αίματος, κυρίως δεσμευμένες στην πρωτεΐνη του πλάσματος, τη θυροξινοδεσμευτική σφαιρίνη (TBG). Η συγκέντρωση της T3 είναι πολύ μικρότερη από εκείνη της T4, αλλά η μεταβολική της δραστικότητα είναι πολύ μεγαλύτερη.

#### B. Κλινικές εφαρμογές

Ο προσδιορισμός της T3 είναι ένας σημαντικός παράγοντας στη διάγνωση νόσου του θυρεοειδούς. Η μέτρησή της έχει αποκαλύψει μια μορφή υπερθυρεοειδισμού στον ασθενή με θυρεοτοξίκωση που έχει αυξημένα επίπεδα T3 και φυσιολογικά επίπεδα T4. Αύξηση στην T3 χωρίς αύξηση στην T4 αποτελεί συχνά πρόδρομη κατάσταση υποτροπιάζουσας θυρεοτοξίκωσης σε ασθενείς που υποβλήθηκαν προηγουμένως σε θεραπεία. Σε άλλους ασθενείς, ο ευθυρεοειδισμός μπορεί να αποδοθεί στη φυσιολογική T3, παρότι οι τιμές της T4 στους ασθενείς αυτούς είναι υποφυσιολογικές.

Ο προσδιορισμός της T3 είναι επίσης χρήσιμος για την παρακολούθηση τόσο ασθενών που υποβάλλονται σε θεραπεία για υπερθυρεοειδισμό όσο και ασθενείς που έχουν διακόψει τη αντιθυρεοειδική φαρμακευτική αγωγή. Αυτό είναι ιδιαίτερα πολύτιμο για τη διάκριση μεταξύ ατόμων με ευθυρεοειδισμό.

Στις γυναίκες, τα επίπεδα της T3 ανεβαίνουν κατά τη διάρκεια της κύνησης, της θεραπείας με οιστρογόνα και την αντισυλληπτικής ορμονοθεραπείας. Όταν τα επίπεδα της T3 είναι παράλληλα με αυξήσεις της TBG με τρόπο ανάλογο προς τα επίπεδα της T4, αυτές οι αλλαγές δεν αντανακλούν μεταβολή στην κατάσταση του θυρεοειδούς.

#### IV. ΒΑΣΙΚ ΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μια σταθερή ποσότητα T3 σημασμένης με  $^{125}\text{I}$  ανταγωνίζεται με την T3 που θα μετρηθεί, η οποία υπάρχει στο δείγμα ή στο βαθμονομητή, για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων T3, που είναι δεσμευμένα σε αντισώματα αντιποντικού από αίγα (GAM) ακινητοποιημένα στο τοίχομα ενός σωληναρίου πολυστυρενίου. Μετά από επώση 1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου, η αντίδραση ανταγωνισμού τερματίζεται με ένα βήμα αναρρόφησης. Τα σωληνάρια κατόπιν πλέονται με 2 ml διαλύματος πλύσης και αναρρόφούνται. Παριστάνεται γραφικά μια καμπύλη βαθμονόμησης και προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις του T3 των δειγμάτων με αναγωγή συγκεντρώσεων από την καμπύλη βαθμονόμησης.

#### V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 εξετάσεων	Χρωματικός κωδικός	Ανασύσταση
Σωληνάρια επιστρωμένα με GAM (αντισώματα)	2 x 48	μαύρο	Έτοιμο για χρήση
Ag <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;"><math>^{125}\text{I}</math></span>			
IXNΗΘΕΤΗΣ: T3 σημασμένη με $^{125}\text{I}$ (κατηγορίας HPLC) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια καζένη και αζίδιο (<0,1%)	1 φιαλίδιο 21 ml 111 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
CAL <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">0</span>	1 φιαλίδιο λυσιφιλοποιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού
Μηδενικός βαθμονομητής σε ανθρώπινο ορό και θυμόλη			
CAL <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">N</span>	5 φιαλίδια λυσιφιλοποιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού
Βαθμονομητές - N = 1 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε ανθρώπινο ορό και θυμόλη			
Ab	1 φιαλίδιο λυσιφιλοποιημένο	μπλε	Προσθέστε 11 ml απεσταγμένου νερού
Αντι-T3 (μονοκλωνικά) αντισώματα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ορολευκωματίνη και θυμόλη			
WASH    SOLN    CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
CONTROL <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">N</span>	2 φιαλίδια λυσιφιλοποιημένο	ασημί	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού
Οροί ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο πλάσμα με θυμόλη			

**Σημείωση:** 1. Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορών.

#### VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

- Απεσταγμένο νερό
- Πιπέτες για διανομή: 50 μl, 100 μl, 200 μl, 500 μl και 2 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
- Αναμείκτης στροβιλισμού (τύπου vortex)
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Αναδευτήρας σωληναρίων (700 rpm)
- Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
- Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό)
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε μετρητής γ ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης του  $^{125}\text{I}$  (ελάχιστη απόδοση 70%).

#### VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

A. **Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε το μηδενικό βαθμονομητή με 0,5 ml απεσταγμένου νερού και τους άλλους βαθμονομητές με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.

B. **Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.

C. **Αντι-T3:** Ανασυστήστε τα αντι-T3 με 11 ml απεσταγμένου νερού.

D. **Διάλυμα πλάνσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλάνσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλάνσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλάνσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

#### VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8°C.
- Μετά την ανασύσταση, οι έλεγχοι είναι σταθερά για 4 ημέρες στους 2-8°C, βαθμονομητές είναι σταθεροί 7 ημέρες στους 2-8°C. Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, θα πρέπει να δημιουργηθούν κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης και να διατηρηθούν σε θερμοκρασία -20°C έπειτα 3 μήνες το μέγιστο. Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Μετά την ανασύσταση, τα αντισώματα αντι-T3 παραμένουν σταθερά για 6 εβδομάδες στους 2-8°C. MHN ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλάνσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

#### IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Τα δείγματα ορού πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8°C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20°C.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.

#### X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

##### A. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό

Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναψείτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακριβεία βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακριβείας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώσης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

##### B. Διαδικασία

- Σημάντετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, δείγμα και ορό ελέγχου. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ("total"), σημάντετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
- Αναμίξτε για λίγο (με αναμείκτη στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, προαραιωμένα δείγματα και ορούς ελέγχου και διανείμετε 50 μl από έκαστο σε αντίστοιχα σωληνάρια.
- Διανείμετε 200 μl T3 σημασμένου με  $^{125}\text{I}$  σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβάνοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ("total").
- Διανείμετε 100 μl αντι-T3 σε κάθε σωληνάριο, εκτός από τα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ("total").
- Ανακίνηστε απαλά με το χέρι τη βάση στηρίξτε των σωληναρίων για να απελευθερώστε τυχόν παγιδευμένες φυσσαλίδες αέρα.
- Επωάστε για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση.
- Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξάρτηση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ("total")). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή θιάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.

- Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη  $^{125}\text{I}$  ["total"]]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
- Αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
- Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

### I. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
- Υπολογίστε τη δεσμευμένη ραδιενέργεια ως ποσοστό της δέσμευσης που προσδιορίζεται στο σημείο μηδενικού βαθμονομητή (0) σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{B/B0}(\%) = \frac{\text{Μετρήσεις (Βαθμονομητής ή δείγμα)}}{\text{Μετρήσεις (Μηδενικός βαθμονομητής)}} \times 100$$

- Με χρήση ημιλογαριθμικού χαρτιού γραφήματος ή χαρτιού γραφήματος logit-log 3 κύκλων, παραστήστε γραφικά τις τιμές (B/B0(%)) για κάθε σημείο βαθμονομητή ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του T3 για κάθε σημείο βαθμονομητή. Απορρίψτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
- Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν επίσης μέθοδοι με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Εάν χρησιμοποιείται αντόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.
- Με αναγωγή των τιμών των δειγμάτων (B/B0 (%)), προσδιορίστε τις συγκεντρώσεις T3 των δειγμάτων από την καμπύλη βαθμονόμησης.
- Για κάθε προσδιορισμό, πρέπει να ελέγχεται το ποσοστό του συνολικού ιχνηθέτη που δεσμεύεται απουσία του μη σημασμένου T3 (B0/T).

### XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως παράδειγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

T3	ερμ	B/B0 (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη $^{125}\text{I}$ ("total")	40019	
Βαθμονομητής		
0,00 nmol/l	28572	100,0
0,35 nmol/l	24781	86,7
1,00 nmol/l	18112	63,4
2,50 nmol/l	10587	37,1
6,50 nmol/l	4629	16,2
14,00 nmol/l	2684	9,4

### XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

#### A. Όριο ανίχνευσης

Το Όριο Τυφλού (LoB), το Όριο Ανίχνευσης (LoD), και το Όριο Ποσοτικοποίησης (LoQ), καθορίστηκαν σύμφωνα με την οδηγία EP17-A του Ινστιτούντου CLSI.

Το LoB υπολογίστηκε με πολλαπλή μέτρηση του τυφλού δείγματος και υπολογισμού του 95<sup>th</sup> εκατοστημόριου της κατανομής των τιμών της εξέτασης. Το LoB υπολογίστηκε πως είναι 0,15 nmol/l.

Το LoD υπολογίστηκε με τον τρόπο που περιγράφεται στην οδηγία. Το LoD υπολογίστηκε πως είναι 0,22 nmol/l.

Το LoQ υπολογίστηκε μέσω εξέτασης 5 δειγμάτων χαμηλής τιμής, 14φορές σε διαφορετικές εξετάσεις. Το LoQ υπολογίστηκε πως είναι 0,22 nmol/l με συντελεστή διακύμανσης (CV) 20%.

#### B. Ειδικότητα

Το ποσοστό διασταυρούμενης αντίδρασης, που υπολογίζεται με σύγκριση της συγκέντρωσης που αποδίδει αναστολή 50%, είναι αντίστοιχα:

Ένωση	Διασταυρούμενη αντίδραση (%)
L-3,3',5 -τριϊωδοθυρονίνη (L-T3)	100
3,3',5 -τριϊωδοθυρονίνη (rT3)	Μη ανιχν.
L-θυροξίνη (L-T4)	0,17
D-θυροξίνη (D-T4)	0,04
3,3',5 - τριϊωδοθυρεοξικό οξύ (TRIAC)	52
3,5 - διϊωδο-L-τυροσίνη	0,22

Μη ανιχν. = μη ανιχνεύσιμο

**Σημείωση:** Στον πίνακα αυτό παρουσιάζεται η διασταυρούμενη αντίδραση στη γη την αντίδραση για την αντί-T3.

### G. Ακρίβεια

#### ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ

#### ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ

Ορός	N	$\langle X \rangle \pm T.A.$ (nmol/l)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	$\langle X \rangle \pm T.A.$ (nmol/l)	Σ.Δ. (%)
A	10	1,06 ± 0,05	4,7	A	10	1,22 ± 0,05	3,7
B	10	5,49 ± 0,31	5,6	B	10	5,43 ± 0,16	3,0

T.A.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

#### Δ. Ορθότητα

#### ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (nmol/l)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (nmol/l)
A	1/1	-	12,29
	1/2	6,15	5,67
	1/4	3,07	2,98
	1/8	1,54	1,42
	1/16	0,77	0,72

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

#### ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Δείγμα	Προστεθείσας T3 (nmol/l)	Ανακτηθείσας T3 (nmol/l)	Ανακτηθείσας (%)
1	1	0,89	89%
	2	2,1	105%
	4	4,37	109%
	8	8,17	102%
	12	14,47	120%

Από όσο είναι δυνατό να γνωρίζουμε, δεν υπάρχει διεθνές υλικό αναφοράς για την παράμετρο αυτή.

#### E. Μεσοδιάστημα μεταξύ της διανομής τελενταίου βαθμονομητή και δείγματος

Οπως φαίνεται πιο κάτω, η διανομή των δειγμάτων πρέπει να γίνεται εντός διαστήματος 60 λεπτών το μέγιστο μετά τη διανομή του βαθμονομητή.

#### ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ

Ορός nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	1,04	1,07	1,05	1,10
C 2	5,15	5,74	6,13	5,76

### XIV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατευναμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

### XV. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές αντές παρέχονται μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Οι συγκεντρώσεις της T3 για ευθυρεοειδικά άτομα, που δεν έχουν υποβληθεί σε θεραπεία, κυμαίνονται από 1,7 έως 2,9 nmol/l (n=80).

## XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

### Ασφάλεια

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το κιτ αυτό περιέχει το  $^{125}\text{I}$  (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία X (28 keV) και γ (35.5 keV).

Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξόπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊστόπονων.

Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Τα συστατικά ανθρόπουν αίματος που περιλαμβάνονται στο κιτ αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HbsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπουν αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αξέδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αξέδιο στο κιτ αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αξέδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσσώρευσης αξεδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

## XVII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. LARSEN, P.R. (1972) **Triiodothyronine : Review of Recent Studies of ist Physiology and Pathophysiology in Man.** Metabolism, 21, 1073-1092.
2. UTIGER, R.D. (1974) **Serum Triiodothyronine in Man.** Ann. Rev. Med., 25, 289-302.
3. HOLLANDER, C.S., et al. (1972) **Clinical Laboratory Observation in Cases of T3 Toxicosis Confirmed by Radioimmunoassay.** Lancet.., !, 609-611.
4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970) **T3 thyrotoxicosis ; Thyrotoxicosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.** Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.
5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK – NIELSEN, K. (1974) **Acta – Endocrinol.** 77, 71.

## XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

ΚΡΟΥΣΕΙΣ "TOTAL" μl	ΒΑΘΟΝΟ ΜΗΤΕΣ μl	ΔΕΙΓΜΑ (ΤΑ) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ μl
Βαθμονομητές (0 έως 5) Δείγματα, οροί ελέγχου Ιχνηθέτης Αντι-T3:	- - 200 -	50 - 200 100
Επώαση		1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης εργασίας Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 ml Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)
Μέτρηση		Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

## T3-RIA-CT

### I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie radioimmunologiczne do ilościowego pomiaru in vitro ludzkiej 3,5,3' trójjodotyroniny (T3) w surowicy.

### II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. Nazwa firmowa: DIAsource T3-RIA-CT
- B. Numer katalogowy: KIP1631 : 96 oznaczeń
- C. Wyprodukowano przez: DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)10 84.99.11                      Fax: +32 (0)10 84.99.91

### III. INFORMACJE KLINICZNE

#### A. Aktywność biologiczna

Gruczoł tarczowy wywiera silny, mający kolosalne znaczenie, wpływ na wzrost, różnicowanie, metabolizm komórkowy i ogólną równowagę hormonalną, jak również na utrzymywanie aktywności metabolicznej oraz rozwój układu kostnego i narządów wewnętrznych.

Hormon tyroksyna (T4) oraz 3,5,3' trójjodotyronina (T3) krążą we krwi w większości związane z proteiną osocza, zwaną globuliną wiążącą tyroksynę (tyreoglobulina, TBG). Stężenie T3 jest znacznie niższe niż T4, lecz jej oddziaływanie metaboliczne jest znacznie silniejsze.

#### B. Zastosowanie kliniczne

Oznaczanie T3 ma duże znaczenie w rozpoznawaniu chorób tarczycy. Jej pomiar pozwolił na wykrycie wariantu nadczynności tarczycy u pacjenta z tyreotoksykozą i podwyższonym poziomem T3 oraz normalnym poziomem T4. Wzrost stężenia T3 bez wzrostu T4 jest często pierwszym objawem nawrotu tyreotoksykozy u uprzednio leczonych pacjentów. U innych pacjentów, eutyreozja jest wiązana z normalnym poziomem T3, pomimo że wartości T4 są nieprawidłowe.

Oznaczanie T3 jest również przydatne w monitorowaniu pacjentów leczonych z powodu nadczynności tarczycy i pacjentów, którzy zakończyli leczenie przeciwttarczycowe. Ma ono szczególne znaczenie w różnicowaniu osób w eutyreozie.

U kobiet, poziomy T3 są podwyższone podczas ciąży, leczenia estrogenami i przyjmowania hormonalnych leków antykoncepcyjnych. Gdy poziomy T3 narastają równolegle z TBG w sposób analogiczny do poziomów T4, zmiany te nie odzwierciedlają zaburzeń statusu tarczycy.

#### IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

W celu pomiaru T3 w próbce lub w kalibratorze, znana ilość cząsteczek T3 oznakowanych  $\text{I}^{125}$  współzawodniczy z T3 o określonej ilości miejsc wiążących przeciwiała anty-T3, związanych z przeciwiałami kozimi i mysimi, unieruchomionymi na ściance probówki polistyrenowej. Po jednogodzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej reakcja współzawodnictwa jest przerywana przez aspirację. Następnie próbówki są płukane przy pomocy 2 ml roztworu pluczającego i aspirowane ponownie. Wykreślana jest krzywa kalibracyjna a stężenia T3 w próbках są określone na podstawie nałożenia dawki na krzywą kalibracyjną.

#### V. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE

Odczynniki	Zestaw 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstytucja
Probówki opłaszczone GAM (kozie i mysie)	2 x 48	czarny	<b>Gotowe do zastosowania</b>
Ag 125I	1 fiołka 21 ml 111 kBq	czerwony	<b>Gotowe do zastosowania</b>
ZNACZNIK IZOTOPOWY: T3 oznakowany jodem $^{125}$ (poziom HPLC) w buforze fosforanowym z kazeiną bydlęcą i azydkiem (<0,1%)	CAL 0	1 fiołka materiał liofilizowany	<b>Dodać 0,5 ml wody destylowanej</b>
Kalibrator zerowy w surowicy ludzkiej z tymolem	CAL N	5 fiołek materiał liofilizowany	<b>Dodać 0,5 ml wody destylowanej</b>
Kalibrator - N = od 1 do 5 (dokładne wartości na etykietach fiolek) w surowicy ludzkiej z tymolem	Ab	1 fiołka materiał liofilizowany	<b>Dodać 11 ml wody destylowanej</b>
Przeciwnia anty-T3 (monoklonalne) w buforze fosforanowym z albuminą z surowicy bydlęczej i tymolem	WASH SOLN CONC	1 fiołka 10 ml	<b>Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).</b>
Roztwór pluczający (TRIS-HCl)	CONTROL N	2 . fiołek materiał liofilizowany	<b>Dodać 0,5 ml wody destylowanej</b>
Kontrole - N = od 1 do 2 w plazma ludzkiej z tymolem		srebrny	

**Uwaga :** Dla rozcieńczeń surowicy należy stosować kalibrator zerowy.

#### VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:

- Woda destylowana
- Pipety do dozowania: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl i 2 ml (zaleca się korzystanie z dokładnych pipet z jednorazowymi końcówkami plastиковymi)
- Mieszadło wirowe
- Mieszadło magnetyczne
- Wytrząsarka do próbówek (700 rpm)
- Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
- Układ do aspiracji (opcjonalnie)
- Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru  $\text{I}^{125}$  (minimalny uzysk 70%)

#### VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- Kalibrator:** Rekonstytuować kalibrator 0-5 przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- Kontrole:** Kontrole należy rekonstytuować przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- Anty-T3:** Rekonstytuować anty-T3 przy pomocy 11 ml wody destylowanej.

- Roboczy roztwór pluczający:** Właściwą objętość roboczego roztworu pluczającego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu pluczającego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór pluczający należy wylać pod koniec dniaSolution .

#### VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstytucją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykiecie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8 °C.
- Po rozpuszczeniu kalibratorzy są stabilne przez 1 tydzień jeśli jest przechowywany w temperaturze od 2 do 8 °C, a elementy sterujące są stabilne w ciągu 4 dni, w temperaturze od 2 do 8 °C. W celu dłuższego przechowywania, należy zamrozić w małych objętościach. Możliwe jest wówczas przechowywanie przez maksymalnie 3 miesiące, w temperaturze -20°C. Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.
- Po rekonstytucji, przeciwiała anty-T3 są stabilne przez 6 tygodni w temperaturze 2-8°C. **NIE ZAMRAŻAĆ.**
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór pluczający powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znaczek izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiolce w temperaturze od 2 do 8°C.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

#### IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Próbki surowicy muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 24 godzin, zaleca się przechowywanie w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.

#### X. PROCEDURA

##### A. Uwagi dotyczące obsługi

Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upłynięciu podanej daty ważności.

Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową.

Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie.

Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego, do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste końcówki jednorazowe pipet. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia.

Przestrzegać czasów inkubacji.

Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.

##### B. Procedura

- Dla każdego kalibratora, próbki i kontrole należy oznaczyć opłaszczone próbówki w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 standardowe próbówki.
- Szybko wymieszać wirując: kalibrator, próbki i kontrole, i dozować po 50 µl każdej substancji do odpowiednich próbówek.
- Do każdej próbówki, w tym do próbówek nieopłaszczonych do całkowitego zliczania, dodać po 200 µl T3 oznakowanego Jodem $^{125}$ .
- Do każdej próbówki, poza próbówkami do całkowitego zliczenia dodać 100 µl przeciwiał anty-T3.
- Delikatnie potrząsnąć statywem w celu uwolnienia uwięzionych pęcherzyków powietrza.
- Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej, nieprzerwanie wytrząsając.
- Aspirować (lub odbić) zawartość każdej próbówki (z wyjątkiem próbówek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastyczowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbówki.
- Przepłukać próbówki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu pluczającego (z wyjątkiem próbówek do całkowitego zliczania) i aspirować zawartość (lub odbić ją). W trakcie dodawania roboczego roztworu pluczającego należy unikać wytwarzania piany.
- Pozostawić próbówki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu.
- Zliczać próbówki w liczniku gamma przez 60 sekund.

## XI. OBLCZANIE WYNIKÓW

- Obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
- Obliczyć związaną radioaktywność jako odsetek wiązania określonego w zerowym punkcie kalibracji (0) zgodnie z poniższym wzorem:

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{Liczba liczeń (dla kalibratora lub próbki)}}{\text{Liczba liczeń (dla kalibratora zerowego)}} \times 100$$

- Na 3 arkuszach półgazytrymicznych lub papierze milimetrowym wykreślić wartości ( $B/B_0(\%)$ ) dla każdego punktu kalibratora jako funkcję stężenia T3 każdego punktu kalibratora. Odrzucić oczywiste wartości graniczne.
- Do opracowania krzywej kalibracyjnej mogą być wykorzystane również metody wspomagania komputerowego. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.
- Nakładając wartości ( $B/B_0 (\%)$ ) próbki należy określić stężenia T3 w próbkach z krzywej kalibracyjnej.
- Dla każdego oznaczenia należy sprawdzić odsetek całkowitego związanego znacznika izotopowego przy braku nieoznakowanego T3 ( $B_0/T$ ).

## XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

T3	cpm	B/B <sub>0</sub> (%)
Zliczanie całkowite	40019	
Kalibrator		
0,00 nmol/l	28572	100,0
0,35 nmol/l	24781	86,7
1,00 nmol/l	18112	63,4
2,50 nmol/l	10587	37,1
6,50 nmol/l	4629	16,2
14,00 nmol/l	2684	9,4

## XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

### A. Granica wykrywania

LOB obliczono mierząc puste kilka razy i oblicza się 95-tego percentyla rozkładu wartości testowych. LOB obliczono na 0,15 nmol / l.

LOD było obliczyć w sposób opisany w normie. LOD obliczono na 0,22 nmol / l.

LOQ obliczono testując 5 o niskiej wartości 14 razy w różne badania.

LOQ obliczono na 0,22 nmol / l. z CV 20%.

### B. Swoistość

Odsetki reaktywności krzyżowej uzyskane przez porównanie stężenia uzyskującego 50% hamowania są następujące:

Składnik	Reaktywność krzyżowa (%)
L-3,3',5 - trójiodotyronina (L-T3)	100
3,3',5 - trójiodotyronina (rT3)	n.w.
L-tyroksyna (L-T4)	0,17
D-tyroksyna (D-T4)	0,04
3,3',5 - kwas trójiodotyreooctowy (TRIAC)	52
3,5 - dwujodo-L-tyrozyna	0,22

n.w. = niewykrywalne

**Uwaga:** tabela przedstawia reaktywność krzyżową dla anty-T3

### C. Precyzyja

#### PRECYZJA W SERII

#### PRECYZJA MIĘDZY SERIAMI

Surowica	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (nmol/l)	CV (%)	Surowica	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (nmol/l)	CV (%)
A	10	1,06 ± 0,05	4,7	A	10	1,22 ± 0,05	3,7
B	10	5,49 ± 0,31	5,6	B	10	5,43 ± 0,16	3,0

SD: Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

## D. Dokładność

### BADANIE ROZCIEŃCZENIA

Próbka	Rozcieńczenie	Stęž. teoretyczne (nmol/l)	Stęž. zmierzona (nmol/l)
A	1/1	-	12,29
	1/2	6,15	5,67
	1/4	3,07	2,98
	1/8	1,54	1,42
	1/16	0,77	0,72

Próbki zostały rozcieńczone za pomocą kalibratora zerowego.

### BADANIE ODZYSKU

Próbka	dodano T3 (nmol/l)	Odzyskany T3 (nmol/l)	Odzysk (%)
1	1	0,89	89%
	2	2,1	105%
	4	4,37	109%
	8	8,17	102%
	12	14,47	120%

Zgodnie z naszą najlepszą wiedzą, dla opisywanego parametru nie istnieją międzynarodowe materiały referencyjne.

### E. Odstęp czasowy pomiędzy dozowaniem ostatniego kalibratora i próbki

Jak tutaj wykazano, wyniki testu pozostają dokładne nawet wówczas, gdy próbka zostanie dozowana w 60 minut po dodaniu do opłaszczonych próbówek kalibratora.

### ODSTĘP CZASOWY

Surowica nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	1,04	1,07	1,05	1,10
C 2	5,15	5,74	6,13	5,76

## XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiolki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

## XV. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości są przedstawione wyłącznie w celach orientacyjnych, każde laboratorium powinno opracować własne wartości referencyjne.

Stężenia T3 dla nieleczonych osób w eutyreozie obejmują zakres od 1,7 do 2,9 nmol/l (n=80).

## XVI. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

### Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki *in vitro*.

Zestaw zawiera  $^{125}\text{I}$  (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i  $\gamma$  (35,5 keV).

Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie plamy z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwiał anty-HCV, anty-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności, że materiały pochodzenia ludzkiego nie przenoszą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbками surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydlęce pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.

Unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierającymi azydęk sodowy jako środek konserwujący). Azydęk znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołówkiem w układzie kanalizacyjnym tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

## XVII. BIBLIOGRAFIA

1. LARSEN, P.R. (1972) **Triiodothyronine : Review of Recent Studies of ist Physiology and Pathophysiology in Man.** Metabolism, 21, 1073-1092.
2. UTIGER, R.D. (1974) **Serum Triiodothyronine in Man.** Ann. Rev. Med., 25, 289-302.
3. HOLLANDER, C.S., et al. (1972) **Clinical Laboratory Observation in Cases of T3 Toxicosis Confirmed by Radioimmunoassay.** Lancet., I, 609-611.
4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970) **T3 thyrotoxicosis ; Thyrotoxicosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.** Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.
5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK – NIELSEN, K. (1974) **Acta – Endocrinol.** 77, 71.

## XVIII. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CAŁKOWITA LICZBA ZLICZEŃ $\mu\text{l}$	KALIBRATORY $\mu\text{l}$	PRÓBKI KONTROL E $\mu\text{l}$
Kalibratory (0 - 5)	-	50	-
Próbki , kontrole	-	-	50
Znacznik	200	200	200
Anty-T3	-	100	100
Inkubacja	1 godzinę w temperaturze pokojowej, nieprzerwanie wytrząsając.		
Rozdzielenie Roboczy roztwór pluczący Rozdzielenie	-	Aspiracja (lub odlewanie) 2,0 ml Aspiracja (lub odlewanie)	
Zliczanie	Zliczanie próbówek przez 60 sekund		



bu

Прочетете целия протокол преди употреба

## T3-RIA-CT

### I. УПОТРЕБА

Радиоимунно изследване за количествено измерване *in vitro* на човешки 3,5,3' трийодотиронин (T3) в серум.

### II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

A. Патентовано име: DIAsource T3-RIA-CT Kit

B. Каталожен номер: KIP1631: 96 теста

C. Произведено от: DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:  
Тел.: +32 (0)10 84.99.11      Факс: +32 (0)10 84.99.91

### III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

#### A. Биологична активност

Щитовидната жлеза упражнява силно и съществено регулаторно въздействие върху растежа, диференциацията, клетъчния метаболизъм и общия хормонален баланс, както и върху поддържането на метаболитната активност и развитието на скелетната и органната система.

Хормоните тироксин (T4) и 3,5,3' трийодотиронин (T3) циркулират в кръвотока, в повечето случаи свързани с плазмения протеин и тироксин-свързвания глобулин (TBG). Концентрацията на T3 е много по-малка от тази на T4, но метаболитната активност на първия е много по-голяма от тази на втория.

#### B. Клинични приложения

Определянето на T3 е важен фактор при диагностиката на заболяванията на щитовидната жлеза. При неговото измерване бе открит вариант на хипертиреоидизма при пациенти с тиреотоксикоза с повишени нива на T3 и нормални нива на T4. Увеличаването на нивата на T3 без увеличаване на тези на T4 е често пъти предвестник на повтаряща се тиреотоксикоза при лекувани преди това пациенти. При други пациенти еутиреоидизът се приписва на нормални нива на T3, въпреки че нивата на техния T4 са аномални.

Определянето на T3 е също така полезно при наблюдаването на пациенти, подложени на лечение за хипертиреоидизъм и пациенти с прекратена лекарствена терапия на щитовидната жлеза. То е особено полезно за разграничаването на субекти с еутиреоидизъм.

При жените нивата на T3 се повишават по време на бременност, на лечение с естроген и хормонална терапия с контрацептиви. Когато нивата на T3 успоредно на TBG се увеличават по аналогичен начин на нивата на T4, то тези промени не са индикатор за изменение на състоянието на щитовидната жлеза.

#### IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

Определено количество натоварен с  $^{125}\text{I}$  ТЗ се конкурира с наличния в проба или калибратор андростендон, подлежащ на измерване, за определено количество центрове на специфични антитела, които са свързани с кози антитела против мишки, имобилизирани към стените на полистиролова епруветка. След едночасова инкубация на стайна температура конкурентната реакция приключва с аспирация. След това епруветките се измиват с 2 ml Работен Измиващ Разтвор и се аспирират. Начертава се калибрационна крива, а концентрациите на ТЗ в пробите се определят чрез интерполяция на дозата от калибрационната крива.

#### V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти	Количес тво 96 теста	Цветен код	Приготвяне
Епруветки, покрити с GAM (кози анти-тела против мишки)	2 x 48	черен	Готов за употреба
Ag $^{125}\text{I}$  ПРОСЛЕДЯВАЩО ВЕЧЕСТВО: ТЗ, натоварен с $^{125}\text{I}$ -йод (HPLC скала) във фосфатен буфер с волски казеин и азид (<0.1%)	1 флакон 21 ml 111 kBq	червен	Готов за употреба
CAL 0  Нулев Калибратор в човешки serum с тимол	1 флакон лиофилизиран	жълт	Добавете 0,5 ml дестилирана вода
CAL N  Калибратор - N = 1 до 5 (виж точните стойности на етикета на флаконите) в човешки serum с тимол	5 флакон лиофилизиран	жълт	Добавете 0,5 ml дестилирана вода
Ab  Анти-ТЗ (моноклонални) антитела във фосфатен буфер с волски serumен албумин и тимол	1 флакон лиофилизиран	син	Добавете 11 ml дестилирана вода
WASH SOLN CONC  Измиващ разтвор (TRIS-HCl)	1 флакон 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
CONTROL N  Контроли 1 и 2 в човешки плазма с тимол	2 флакона лиофилизиран	сребърен	Добавете 0,5 ml дестилирана вода

Забележка: Използвайте нулевия калибратор за serumните разреждания.

#### VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

- Дестилирана вода
- Пипети от: 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$ , 500  $\mu\text{l}$  и 2 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
- Завихрящ смесител
- Магнитен сепаратор
- Клатещо устройство за епруветки (700 оборота в минута)
- 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
- Аспирационна система (по избор).
- Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество  $^{125}\text{I}$  (минимален капацитет от 70%).

#### VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- Калибратори :** Реконституирайте нулевия калибратор с 0,5 ml дестилирана вода, а останалите калибратори - с 0,5 ml дестилирана вода.
- Контроли:** Реконституирайте контролите с 0,5 ml дестилирана вода.

#### C. Анти-ТЗ: Реконституирайте анти-ТЗ с 1 ml дестилирана вода.

- Работен измиващ разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измиваща разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизираме. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиващ разтвор в края на деня.

#### VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8°C преди отваряне или реконституиране.
- След разтваряне, контроли са стабилни в продължение на 4 дни при температура 2-8 °C, калибратори са стабилни 7 дни при температура 2-8 °C. След реконституиране, калибраторите и контролите са стабилни за срок от 7 дни при температури 2-8°C. За по-дълги срокове на съхранение, се определя кратко и се съхранява при температура -20 °C за максимум 3 месеца. Избегвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- След реконституирането анти-ТЗ антителата са стабилни в продължение на 6 седмици при 2-8°C. **НЕ ЗАМРАЗЯВАЙТЕ.**
- Прясно приготвения Работен измиващ разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

#### IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът трябва да се съхранява при температури 2-8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 24 часа, се препоръчва съхранение при температура -20°C.
- Избегвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.

#### X. ПРОЦЕДУРА

##### A. Общи бележки

Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партиди китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура.

Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклащане или въртеливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен накрайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба.

Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрели точността. Съобразявайте се с времето за инкубация.

Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

##### B. Процедура

- Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
- Разплатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 50  $\mu\text{l}$  от всяко в съответните епруветки.
- Разпределете 200  $\mu\text{l}$  ТЗ, натоварен с  $^{125}\text{I}$  във всяка епруветка, включително в непокритите епруветки за общото преброяване.
- Разпределете 100  $\mu\text{l}$  анти-ТЗ във всяка епруветка, с изключение на тези за определяне на общия брой импулси.
- Разплатете нежно с ръка контейнера с епруветките, за да освободите всяко останало въздушно мехурче.
- Инкубрайте за 1 час на стайна температура и непрекъснато раклащане.
- Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дължото на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
- Измийте епруветките с 2 ml Работен Разтвор за измиване (с изключение на общия брой) и аспирирайте (или прелейте). Избегвайте разпенване по време на добавянето на Работния Разтвор за измиване.
- Оставете епруветките в изправено положение за две минути и аспирирайте останалите капки течност.
- Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

## XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветки.
  - Изчислете свързвашата радиоактивност като процент от свързването, определен при нулевата калибрационна точка (0) според следната формула:
  - Използвайки 3 циклична семи-логаритмична или logit-log графична хартия, нанесете (B/B<sub>0</sub>(%)) стойностите за всяка калибрационна точка като функция на Т3 концентрацията на всяка калибрационна точка.
- Отхвърлете очевидните отклонения..

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{брой (Калибратор и проба)}}{\text{брой (Нулев Калибратор)}} \times 100$$

- Компютърно асистирани методи също могат да бъдат изполвани, за да се построи калибрационната крива. Ако се използва автоматичен метод на обработка на резултатите, се препоръчва подходяща 4-параметрова логистична крива.
- Чрез интерполяция на (B/B<sub>0</sub> (%)) стойностите от пробата се определят Т3 концентрациите на пробите от калибрационната крива.
- Процентът на общото проследяващо вещество, свързано при липса на ненатоварен Т3 (B<sub>0</sub>/T), трябва да се провери за всяко изследване.

## XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна крива.

T3	cpm	B/B <sub>0</sub> (%)
Общ брой	40019	
Калибратор		
0,00 nmol/l	28572	100,0
0,35 nmol/l	24781	86,7
1,00 nmol/l	18112	63,4
2,50 nmol/l	10587	37,1
6,50 nmol/l	4629	16,2
14,00 nmol/l	2684	9,4

## XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

### A. Определен лимит

LOB се изчислява чрез измерване на празни няколко пъти и изчисляването на 95-ти процентил на разпределението на стойностите от теста. LOB се изчислява на 0,15 нмол / л.

LOD се изчислява, както е описано в насока. LOD бе изчислена на 0,22 нмол / л.

LOQ се изчислява чрез тестване на 5 преби на ниска стойност 14 пъти в различни тестове. LOQ бе изчислена на 0,22 нмол / л. с CV на 20%

### B. Специфичност

Процентът на кръстосана реакция, преценен чрез сравняване с концентрацията при 50% потискане, е съответно:

Съединение	Кръстосана реактивност (%)
L-3,3',5 - трийодтиротин (L-T3)	100
3,3',5' - трийодтиротин (rT3)	ND
L- тироксин (L-T4)	0,17
D- тироксин (D-T4)	0,04
3,3',5 - трийодотирооцитна киселина (TRIAC)	52
3,5 – дийдо-L-тироzin	0,22

ND = неизмерим

**Забележка:** тази таблица показва кръстосаната реактивност за анти T3

### Г. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО

МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО

Серум	N	$\bar{X} \pm SD$ (nmol/l)	CV (%)	Серум	N	$\bar{X} \pm SD$ (nmol/l)	CV (%)
A	10	1,06 ± 0,05	4,7	A	10	1,22 ± 0,05	3,7
B	10	5,49 ± 0,31	5,6	B	10	5,43 ± 0,16	3,0

SD : Стандартно отклонение; CV: Коефициент на вариация

### D. Точност

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ

Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (nmol/l)	Измерена концентрация (nmol/l)
A	1/1	-	12,29
	1/2	6,15	5,67
	1/4	3,07	2,98
	1/8	1,54	1,42
	1/16	0,77	0,72

Пробите бяха разредени с нулев калибратор

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

Проба	добавен Т3 (nmol/l)	Възстановен Т3 (nmol/l)	Възстановен (%)
1	1	0,89	89%
	2	2,1	105%
	4	4,37	109%
	8	8,17	102%
	12	14,47	120%

Доколкото ни е известно, за този параметър не съществува международен референтен материал.

### Д. Закъснение

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 60 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруветка.

### Закъснение

Серум nmol/l	0'	20'	40'	60'
C 1	1,04	1,07	1,05	1,10
C 2	5,15	5,74	6,13	5,76

## XIV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни преби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

## XV. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности.

Концентрациите на Т3 при нелекувани субекти сeutиреоидизъм варират от 1.7 до 2.9 nmol/l (n=80).

## XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

### Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.

Този набор съдържа  $^{125}\text{I}$  (полуживот: 60 дни), еmitиращ йонизираща X (28 keV) и  $\gamma$  (35.5 keV) лъчения.

Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извърши в определена за целта територия, далеч от регуляри зони на преминаване. В лабораторията трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и стъклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радионизотопи.

Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, serumните или плазмените преби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.

Всички животински продукти и деривати са били събираны от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска serumна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третират като потенциално инфекционни.

Избягвайте каквъто и да било кожен контакт с реагентите (съдържат натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със сила и обилна струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.

Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пипетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за единократна употреба.

## XVII. БИБЛИОГРАФИЯ

1. LARSEN, P.R. (1972)  
**Triiodothyronine : Review of Recent Studies of its Physiology and Pathophysiology in Man.**  
Metabolism, 21, 1073-1092.
2. UTIGER, R.D. (1974)  
**Serum Triiodothyronine in Man.**  
Ann. Rev. Med., 25, 289-302.
3. HOLLANDER, C.S., et al. (1972)  
**Clinical Laboratory Observation in Cases of T<sub>3</sub> Toxicosis Confirmed by Radioimmunoassay.**  
Lancet., !, 609-611.
4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970)  
**T<sub>3</sub> thyrotoxicosis ; Thyrotoxicosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.**  
Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.
5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK - NIELSEN, K. (1974)  
Acta – Endocrinol. 77, 71.

## XVIII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ $\mu\text{l}$	КАЛИБРАТОРИ $\mu\text{l}$	ПРОБА (II) КОНТРОЛИ $\mu\text{l}$
Калибратори (0-5)	-	50	-
Проби, контроли	-	-	50
Трейсър	200	200	200
Анти-T <sub>3</sub>	-	100	100
Инкубация	1 час на стайна температура при непрекъснато разклащане		
Сепарация	-	аспирirайте (или прелейте) 2.0 ml	аспирirайте (или прелейте)
Измиващ разтвор	-		
Сепарация	-		
Броене	Отчетете спрютките за 60 секунди		

# DIAsource T3-RIA-CT

## 1. 제품개요

번호	항 목	내 용
1	품목군	내분비물질검사시약
2	제품명	DIAsource T3-RIA-CT
3	허가번호	수허 17-125 호
4	사용목적	혈청내 사람의 3,5,3 ' Triiodothyronine(T3)의 체외 정량 측정
5	포장단위	96 테스트/키트
6	저장방법	별첨
7	사용기한	별첨

## 2. 측정원리

<sup>125</sup>I 표지된 T3의 고정된 양은 폴리에스티렌 시험관의 벽에 부착되어진 goat anti mouse 항체 부위의 고정된 양에 대한 검체 또는 표준용액으로 측정되어 질 T3와 경쟁한다. 실온에서 1시간 동안 방응시킨 후, 흡출단계에서 경쟁방응이 종료된다. 시험관을 세척액 1ml로 세척한 다음 다시 흡출한다. 표준곡선이 구성되고 검체의 T3 농도는 표준곡선으로부터 조사량 삼입에 의해 측정되어 진다. T3 측정은 갑상선질환의 진단에 중요한 인자이다. 그것의 측정은 높은 T3와 정상적인 T4 수치를 갖고 있는 갑상선 독성 환자에 있어 갑상선 기능 진증의 변형을 밝힐 수 있다.

## 3. 제공되는 시약

번호	명칭	구성	Colour Code
1	Coated tube	2 X 48	Black
2	Tracer ( <sup>125</sup> I labelled T3)	1 vial, 21ml	Red
3	Calibrator 0	1 vial, 동결건조	Yellow
4	Calibrator 1-5	5 vial 동결건조	Yellow
5	Anti-T3	1 vial, 동결건조	Blue
6	Wash Solution	1 vial, 10ml	Brown
7	Control I, II	2 vial, 동결건조	Silver

## 4. 측정절차

### 1) 검체준비 및 저장방법

- (1) 혈청 검체는 반드시 2~8°C로 보관한다.
- (2) 24시간 내에 검사를 하지 않을 경우, 검체를 -20°C에서 보관할 것을 권장 한다.
- (3) 냉동과 해동을 반복하지 않는다.

### 2) 시약 준비

- (1) 표준용액 0~5 : 0.5ml의 중류수로 재구성 한다.
- (2) 정도관리물질 : 0.5ml의 중유수로 재구성 한다.
- (3) 항 T3 : 11ml의 중류수로 재구성 한다.
- (4) 세척액 : 세척액 용량 1에 중류수 용량 69 비율로 준비 한다.

### 마그네슘 바

를 이용하여 균질화 한다. 세척액은 하루가 지나면 폐기 한다.

### 3) 검사과정

- (1) 각각의 표준용액, 정도관리물질, 검체를 한쌍으로 피복시험관에 표시한다.
- (2) 각각의 시험관에 표준용액, 정도관리물질, 검체를 50uL씩 분주한 후 간단히 혼합한다.
- (3) 총 계수를 위한 피복되지 않은 시험관을 포함하여 <sup>125</sup>Iodine 표지 T3 (Tracer)를 200uL 씩 분주한다.
- (4) 총 계수 시험관을 제외하고, 각각의 시험관에 항 T3를 100uL씩 분주한다.
- (5) 어떤 거품도 생기지 않도록 조심스럽게 시험관을 흔들어 준다.
- (6) 세척액으로 세속 혼들어 주면서 1시간 동안 반응 시킨다.
- (7) 총 계수 시험관을 제외하고 각각의 시험관의 내용물을 흡출한다. 모든 액체를 제거하기 위해 피복시험관의 바닥까지 흡출기의 끝이 닿도록 한다.
- (8) 총 계수 시험관을 제외하고 모든 시험관을 세척액 2ml로 세척하고 흡출한다. 세척액 첨가시 기포가 생기는 것을 피하도록 한다.
- (9) 시험관을 2분 동안 세워 두었다가 남아 있는 액체를 흡출한다.
- (10) 감마계측기로 60초 동안 계측한다.

### 4) 결과산출

- (1) 중복 측정의 평균을 계산한다.
- (2) 다음과 같은 공식에 의해 zero 표준용액 점에서 측정된 결합 비율에 따라

결합 방사능을 계산한다.

Counts (Calibrator or sample)

$$B/BO(%) = \frac{\text{Counts} (\text{Zero Calibrator})}{\text{Counts} (\text{Calibrator or sample})} \times 100$$

- (3) 3순환 반-대수 또는 logit-log 그래프용지를 사용하고, 각각의 표준용액 점의

T3 농도의 함수로서 각각의 표준용액을 위한 값(B/BO(%))을 도모한다. 명백한 이상점(비정상적으로 분포를 벗어난 값)을 거부한다.

- (4) 보정 방식 컴퓨터가 표준곡선을 만들기 위해 사용 되어질 수 있다. 자동 결과 처리를 사용하는 경우 4-매개변수 로지스틱 함수 곡선으로 피팅을 권장한다.
- (5) 검체의 보간에 의해 (B/BO(%))의 값은 표준곡선으로부터 검체중의 T3

## [체외진단의료기기]

농도를 결정한다

- (6) 각각의 측정을 위해 비표지 T3(B0/T)의 부재로 총 트레이서 결합 비율이 확인 되어야 한다.

### 5) 일반데이터

다음 자료는 예시일 뿐이며 실제 표준곡선을 대신하여 사용해서는 안된다.

T3	cpm	B/Bo (%)
Total count	40019	
Calibrator 0.00 nmol/ml	28572	100.0
0.35 nmol/ml	24781	86.7
1.00 nmol/ml	18112	63.4
2.50 nmol/ml	10587	37.1
6.50 nmol/ml	4629	16.2
14.00 nmol/ml	2684	9.4

### 6) 내부정도관리

- (1) 정도관리 1과 2에서 얻어진 결과 값이 바이알에 표기된 범위가 아니면, 그 결과 값은 불일치에 대한 충분한 설명이 없는 한 사용 되어 질수 없다.

- (2) 각각의 검사실은 정도관리 검체에 대한 자신의 풀을 만들어야 하고, 액상

은 동결하여 보관해야 한다.

- (3) 검체를 중복 검사했을 때 두 결과 값의 차이에 대한 허용기준은 우수 실험실 관리기준에 의거한다.

### 7) 참고치

이 값은 참고용으로만 제공 된다 따라서 각 검사실은 각자의 정상범위의 값을 설정해야 한다. 치료를 하지 않은 갑상선기능 정상에 대한 T3농도 범위는 1.7~2.9 nmol/L 이다.

## 5. 완제품 시험규격

### 1) 의관검사

제조원의 품질관리표준지침서(문서번호 POCQ075)에 따라 시험하고, 확인양식(문서번호 FTPK004)에 기입하고 확인한다.

- (1) 문서번호 ITPKKIP1631에 기입된 대로 구성품이 일치하는지 확인한다

- (2) 제품 구성표의 lot와 키트안의 구성품이 일치하는지 확인

- (3) 구성품과 키트의 유효기간을 확인

- (4) 구성품의 라벨상태를 확인

- (5) 구성품의 포장상태를 확인(용량, 물질 등)

- (6) 서류가 맞게 있는지 확인(사용설명서, 품질서류 등)

- (7) 박스에 라벨이 정확히 부착되어 있는지 확인

- (8) 검사 후 담당자는 확인양식(FTP K004)에 기입하고 서명한다.

### 2) 성능시험

제조원의 품질관리 표준지침서(문서번호 POCQ006)에 따라 시험한다.

- (1) 총 계수는 허용범위(50,423~55,414 cpm)내에 있어야 한다.

- (2) 표준물질 0의 결합율은 허용범위(63.6~76.2 %)내에 있어야 한다.

- (3) 표준물질 1의 결합율은 허용범위(80.3~87.3 %)내에 있어야 한다.

- (4) 표준물질 5의 결합율은 허용범위(7.8~12.8 %)내에 있어야 한다.

- (5) 키트에 정도관리물질에서 얻어진 값이 허용범위

(S1 lot 12H11 : 0.99~1.67 nmol/L, S2 lot 12H11 : 2.7~4.08 nmol/L)내에

있어야 한다.

비고 : 각 로트의 허용범위는 방사면역측정을 위한 표준지침서

(문서번호 CACQKIP1631)에 기록되어 있다.

(허용범위는 평균값의 ±3SD를 기준으로 측정된다.)

## 6. 사용시 주의사항

- 1) 체외진단용으로만 사용하여야 하며, 체외진단용 이외 흡입이나 체내 투여 등을 금지한다.

- 2) 동 제품에 포함된 방사성동위원소 취급 시 다음 사항을 준수하여야 한다.

- (1) 방사성동위원소는 지정된 장소에 보관하며, 관련 법령에 따라 자격을 갖춘자가 지정된 장소에서 사용한다.

- (2) 방사성동위원소를 취급할 때 안전에 영향을 주는 불필요한 행동을 하지 않는다. (예, 음식 섭취, 흡연, 화장 등)

- (3) 방사성동위원소를 포함한 시약을 분주해야 하는 경우, 입으로 파이펫팅 하지 않는다.

- (4) 방사성동위원소를 취급할 때에는 장갑 및 실험복을 착용하며, 검사가 완료되면 손을 깨끗이 닦는다.

- (5) 유출된 모든 물질은 즉시 닦아 낸 후 폐기 또는 취급에 관련된 소관 법령에 따라 처리하여야 하며, 방사성 물질의 오염이나 방사성 물질 등의 분실은 관련 법령에 정한 규정된 절차에 따라 처리한다.

- 3) 검사를 실시하기 전에 모든 제품(구성품 포함)은 해당 제품별 검사 온도 조건에 따라 실시한다.

- 4) 그밖에 방사성동위원소의 보관, 이동, 사용 및 폐기 등 취급에 관한 사항은 관련 법규 또는 규정에 따른다.

- 5) 본 kit 내의 혈액성분은 시험을 거쳤고, HbsAg, 항HIV 1와 항 HIV 2에 대한

반응은 없었다. 알려져 있는 어떠한 방법으로도 간염, AIDS, 감염성혈액 성분 같은 감염성 물질의 부재를 확신시킬 수 없다 그려므로 시약과 환자 검체의 취급은 병원내의 안전절차에 따라야 한다.

- 6) 시약이 피부에 접촉되지 않게 하라(요오드화나트륨 방부제). 본 kit 내의 요오드화합물은 배관재통의 날과 구리와 반응하여 큰 폭발성을 가진 요오드화금속으로 변화할 수 있다. 세척 단계에서 요오드화합물의 생성을 막기 위해 흐르는 물로 배수관을 씻어 내도록 한다.

- 7) 방사성물질의 취급과 저장에 대한 일지는 실험실 내에 보관되어야 한다. 방사성 물질로 오염될 수 있는 서로 다른 방사성물질에 의한 교차 오염을 예방하기 위해 실험실 기구와 유리제품은 서로 분리 되어져야 한다.

- 8) 방사성 물질이 쏟아진 경우에는 방사선안전 절차에 따라 즉시 제거되어야 한다. 방사성 폐기물은 특정 규정과 실험실의 관할권을 가지고 있는 신고당국의 지침에 따라 처리되어야 한다. 방사선안전에 대한 기본 규칙의 준수는 충분한 방호를 제공한다.

## DIAsource T3-RIA-CT [체외진단의료기기]

[별첨] 저장방법 및 저장기한

T3-RIA-CT	상태	보관조건	유효기한 (복원일로부터)	비고
Calibrator 0 ~ 5	복원시	2~8°C	7일	완제품
		-20°C	3개월	
Control I, II		2~8°C	7일	
		-20°C	3개월	
Antiserum		2~8°C	6주	

T3-RIA-CT	상태	보관조건	유효기한 (제조일로부터)	비고
Total Kit	미개봉	2~8°C	10주	완제품
Coated Tube			12개월	
Calibrator 0 ~ 5			3년	
Control I, II			3년	
Antiserum			3년	

T3-RIA-CT	상태	보관조건	유효기한 (제조일로부터)	비고
Total Kit	개봉	2~8°C	10주	완제품
Coated Tube			12개월	
Calibrator 0 ~ 5			3년	
Control I, II			3년	
Antiserum			3년	