



T3-RIA-CT

KIP1631 - KIP1634

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
KIP1634: 4 x 96 tests
- C. **Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

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 stream, 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}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 Test Kit	4 x 96 Test Kit	Colour Code	Reconstitution
 Tubes coated with GAM (Goat anti Mouse)	2 x 48	8 x 48	black	Ready for use
Ag125I TRACER: ^{125}I Iodine labelled T3 (HPLC grade) in phosphate buffer with bovine casein and azide (<0.1%)	1 vial 21 ml 111 kBq	4 vials 21 ml 4x111 kBq	red	Ready for use
CAL0 Zero Calibrator in human serum and thymol	1 vial lyophil.	2 vials lyophil.	yellow	Add 0.5 ml distilled water
CALN Calibrators - N = 1 to 5 (see exact values on vial labels) in human serum and thymol	5 vials lyophil.	10 vials lyophil.	yellow	Add 0.5 ml distilled water
Ab Anti-T3 (monoclonal) antibodies in phosphate buffer with bovine serum albumin and thymol	1 vial lyophil.	4 vials lyophil.	blue	Add 11ml distilled water
WASH SOLN CONC Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	4 vials 10 ml	brown	Dilute 70 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROLN Controls - N = 1 or 2 in human serum with thymol	2 vials lyophil.	4 vials lyophil.	silver	Add 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:

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

VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators:** Reconstitute the zero calibrator with 0.5 ml distilled water and the other calibrators with 0.5 ml distilled water.
- Controls:** Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- Anti-T3:** Reconstitute the anti-T3 with 11 ml distilled water.
- 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 and controls are stable for 7 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

- Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For the determination of total counts, label 2 normal tubes
- Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 50 μl of each into the respective tubes.
- Dispense 200 μl of ^{125}I Iodine labelled T3 into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
- Dispense 100 μl of anti-T3 into each tube, except tubes for total counts.
- Shake the tube rack gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
- Incubate for 1 hour at room temperature with continuous shaking.
- 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.
- 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.
- Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
- Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

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

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

- 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.
- 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.
- By interpolation of the sample (B/B0 (%)) values, determine the T3 concentrations of the samples from the calibration curve.
- 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

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations below the average counts at zero binding, was 0.1 nmol/l.

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- thyroxine (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	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Serum	N	<X> ± 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 ¹²⁵I (half-life: 60 days) ,emitting ionizing X (28 keV) and γ (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., 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. 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)	
Working Wash solution		2.0 ml	
Separation		Aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIAsource Catalogue Nr : KIP1631	P.I. Number : 1700580/en	Revision nr : 100813/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Revision date : 2010-08-13

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
KIP1634: 4 x 96 Tests

C. Hergestellt von : DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

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 empfängnisverhütender 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 ¹²⁵I 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 Röhrrchen 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 Test Kit	4 x 96 Test Kit	Farbcode	Rekonstitution			
 Mit GAM (Ziege Anti-Maus) beschichtete Röhrchen	2 x 48	8 x 48	Schwarz	gebrauchsfertig			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>125I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iod-markiertes T3 (HPLC grade) in Phosphatpuffer mit Rinder-casein und Azid (<0,1%)	Ag	125I	1 Gefäß 21 ml 111 kBq	4 Gefäße 21 ml 4x111 kBq	Rot	gebrauchsfertig	
Ag	125I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Null-Kalibrator: Humanserum und Thymol	CAL	0	1 Gefäß lyophilisiert	2 Gefäße lyophilisiert	Gelb	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratoren - N = 1 bis 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Humanserum und Thymol	CAL	N	5 Gefäße lyophilisiert	10 Gefäße lyophilisiert	Gelb	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ab</td></tr></table> Anti-T3 Antikörper (monoclonal) in Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin und Thymol	Ab	1 Gefäß lyophilisiert	4 Gefäße lyophilisiert	Blau	11 ml dest. Wasser zugeben		
Ab							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	4 Gefäße 10 ml	Braun	70x mit dest. Wasser (Magnetrührer verwenden) verdünnen
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 oder 2 in Humanserum mit Thymol	CONTROL	N	2 vials lyophilisiert	4 Gefäße lyophilisiert	Silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N						

Achtung: Benutzen Sie den Null-Kalibrator zur Serumverdünnung

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

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

- 1. Dest. Wasser
- 2. Pipetten: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl und 2 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen wird empfohlen)
- 3. Vortexmixer
- 4. Magnetrührer
- 5. RöhrchenSchüttler (700 upm)
- 6. 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
- 7. Absaugsystem (optional)
- 8. Jeder Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. (minimale Ausbeute 70%)

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. **Kalibratoren:** Rekonstituieren Sie den Null-Kalibrator mit 0,5 ml aqua dest. und die anderen Kalibratoren mit 0,5 ml destilliertem Wasser.
- B. **Kontrollen:** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml dest. Wasser.
- C. **Anti T3:** Rekonstituieren Sie das Anti T3 mit 11 ml aqua dest.
- D. **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 und Kontrollen eine Woche 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 2-6°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**
 1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Kontrolle und jede Probe. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
 2. Vortexen Sie Kalibratoren, Kontrollen und Proben kurz und geben Sie 50 µl von jedem in ihre Röhrchen.
 3. Geben Sie 200 µl des ¹²⁵Iod-markierten T3 in jedes Röhrchen, einschließlich der unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtaktivität.
 4. Dispensieren Sie 100µl Anti T3 in jedes Röhrchen mit Ausnahme der Röhrchen für die Gesamtaktivität.
 5. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
 6. Inkubieren Sie 1 Stunde bei Raumtemperatur unter kontinuierlichem Schütteln.
 7. 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.
 8. Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
 9. Lassen Sie die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen, und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
 10. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter über 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- 1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- 2. Berechnen Sie die gebundene Radioaktivität als Prozentsatz des am Null-Kalibratorpunkt (0) bestimmten Wertes nach folgender Formel:
$$B/B0 (\%) = \frac{\text{Aktivität (Kalibrator oder Probe)}}{\text{Aktivität (Null-Kalibrator)}} \times 100$$
- 3. 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

Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.
Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen unterhalb des gemessenen Durchschnittswerts bei Nullbindung, entsprach 0,1 nmol/l.

B. Spezifität

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

Substanz	Kreuzreaktivität (%)
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	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Serum	N	<X> ± 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: Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünnung	Theoretische Konznt. (nmol/l)	Gemessene Konznt. (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 ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen) , das ionisierende X (28 keV) und γ (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 Laborausüstung 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, Serum proben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern 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 Abflüßrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrte den Abfluß gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.
Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und ver wenden 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., 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 SIERACK – NIELSEN, K. (1974)
Acta – Endocrinol.
77, 71.

XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT- AKTIVITÄ T (µl)	KALIBRA- TOREN (µl)	PROBE(N)- KONTROL LEN (µl)
Kalibratoren (0 to 5) Proben, Kontrollen Tracer Anti-T3	- - 200 -	50 - 200 100	- 50 200 100
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		

DIAsource Katalognummer: KIP1631	Beipackzettelnummer: 1700580/de	Nummer der Originalausgabe: 100813/1
-------------------------------------	------------------------------------	--

Revisionsdatum: 2010-08-13

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
KIP1634: 4 x 96 test
- C. Prodotto da:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:
Tel: +32 (0) 67 88.99.99 Fax: +32 (0) 67 88.99.96

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 tireotossicosi. In altri casi, l'eutiroidismo 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 farmacologia antitiroidea. Esso si rivela, inoltre, particolarmente utile per la distinzione tra soggetti eutiroidi.
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 ¹²⁵I 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	Kit da 4 x 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione			
 Provette sensibilizzate con GAM (capra anti-topo)	2 x 48	8 x 48	nero	Pronte per l'uso			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Marcato: T3 marcato con ¹²⁵ I (grado HPLC), in tampone fosfato con caseina bovina e sodio azide (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 flacone 21 ml 111 kBq	4 flaconi 21 ml 4x111 kBq	rosso	Pronte per l'uso	
Ag	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibratore Zero in siero umano e timolo.	CAL	0	1 flacone Liofiliz.	2 flaconi Liofiliz.	giallo	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibratori N. 1-5 (vedi valori esatti sulle etichette dei flaconi) in siero umano e timolo	CAL	N	5 flaconi Liofiliz.	10 flaconi Liofiliz.	giallo	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ah</td></tr></table> Anticorpi anti-T3 (monoclonali) in tampone fosfato con albumina di siero bovino e timolo	Ah	1 flacone Liofiliz.	4 flaconi Liofiliz.	blu	Aggiungere 11 ml di acqua distillata		
Ah							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wash solution (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacone 10 ml	4 flaconi 10 ml	bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controlli: N = 1 o 2, in siero umano con timolo	CONTROL	N	2 flaconi Liofiliz.	4 flaconi Liofiliz.	argento	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata	
CONTROL	N						

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.

- 1. Acqua distillata.
- 2. Pipette per dispensare 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl e 2 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
- 3. Agitatore tipo vortex.
- 4. Agitatore magnetico.
- 5. Agitatore rotante (700rpm)
- 6. Pipetta a ripetizione automatica 5 ml per i lavaggi. (Tipo Cornwell)
- 7. Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
- 8. Contatore gamma con finestra per ¹²⁵I (efficienza minima 70%)

VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- A. **Calibratore:** Ricostituire il calibratore Zero con 0,5 ml di acqua distillata e gli altri calibratori con 0,5 ml di acqua distillata.
- B. **Controlli:** Ricostituire i controlli con 0,5 ml di acqua distillata.
- C. **Anti-T3:** Ricostituire l’anti-T3 con 11 ml di acqua distillata.
- D. **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 recostituzione, calibratore e controlli sono stabili 7 giorni a 2-8°C e suddivisi in aliquote a -20°C per periodi più lunghi per 3 mesi. Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo.
- 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-scongelo 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 usi 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**
 1. Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplicato ogni calibratore, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell’attività totale.
 2. Agitare brevemente su vortex calibratore, campioni e controlli. Dispensare 50 µl di calibratore, campioni e controlli nelle rispettive provette.
 3. Dispensare 200 µl di T3 marcato con ¹²⁵I in tutte le provette, comprese quelle per l’attività totale.
 4. Distribuire 100 µl di anti-T3 in ogni provetta, escluse quelle per l’attività totale.
 5. Scuotere gentilmente il portaprovette per liberare eventuali bolle d’aria intrappolate nel liquido contenuto nelle provette.
 6. Incubare per un’ora a temperatura ambiente su agitatore.
 7. 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.
 8. Lavare tutte le provette, tranne quelle per l’attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
 9. Lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
 10. Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

- 1. Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
- 2. Calcolare la radiattività legata come percentuale di legame determinata al punto di calibrazione zero (0) secondo la seguente formula:
$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{cpm (Calibratore, campioni o controlli)}}{\text{cpm (Zero Calibratore)}} \times 100$$
- 3. Usando carta semilogaritmica a 3 cicli o logit-log e ponendo in ordinata i rapporti di competizione. B/B₀ (%) 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

La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con cpm pari alla media meno 2 deviazioni calibratore di 20 replicati dello calibratore zero, è risultata essere 0,1 nmol/l.

B. Specificità

Le percentuali di cross-reattività 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-thyroxine (D-T4)	0,04
3,3',5 - triiodothyroacetic acid (TRIAC)	52
3,5 – diiodo-L-tyrosine	0,22

ND = non dosabile

Nota : questa tabella mostra la cross-reattività relativa all’anti T3.

C. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	<X> ± SD (nmol/L)	CV (%)	Siero	N	<X> ± 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 (ng/ml)	Concentrazione misurata (ng/ml)
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 l’aggiunta dell’ultimo 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 l’aggiunta 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 ¹²⁵I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (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 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., 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. SCHEMA DEL DOSAGGIO

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

Numero di catalogo di DIAsource : KIP1631	P.I. numero : 1700580/it	Revisione numero : 100813/1
--	-----------------------------	--------------------------------

Data di revisione : 2010-08-13

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:** Κιτ T3-RIA-CT της DIASource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KIP1631: 96 προσδιορισμοί
KIP1634: 4 x 96 προσδιορισμοί
- Γ. **Κατασκευάζεται από την:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)67 88.99.99 Φαξ: +32 (0)67 88.99.96

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 δραστηριότητα 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 απόμων με ευθυρεοειδισμό.

Στις γυναίκες, τα επίπεδα της T3 ανεβαίνουν κατά τη διάρκεια της κύησης, 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. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μια σταθερή ποσότητα T3 σημασμένης με ¹²⁵I 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 τοίχωμα ενός σωληναρίου πολυστυρενίου. Μετά από επώαση 1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου, η αντίδραση ανταγωνισμού τερματίζεται με ένα βήμα αναρρόφησης. Τα σωληνάρια κατόπιν πλένονται με 2 ml διαλύματος πλύσης και αναρροφούνται. 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 εξετάσε- ων	Κιτ 4 x 96 εξετά- σεων	Χρωμα- τικός κωδι- κός	Ανασύσταση			
 Σωληνάρια επιστρωμένα με GAM (αντισώματα)	2 x 48	8 x 48	μαύρο	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ΙΧΝΗΘΕΤΗΣ: T3 σημασμένη με ¹²⁵ I (κατηγορίας HPLC) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια καζεΐνη και αζίδιο (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 φιαλίδιο 21 ml 111 kBq	4 φιαλίδια 21 ml 4 x 111 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση	
Ag	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Μηδενικός βαθμονομητής σε ανθρώπινο ορό και θυμόλη	CAL	0	1 φιαλίδιο λυοφιλο- ποιημένο	2 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Βαθμονομητές - N = 1 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε ανθρώπινο ορό και θυμόλη	CAL	N	5 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	10 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>Ab</td></tr></table> Αντι-T3 (μονοκλωνικά) αντισώματα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ορολευκοματίνη και θυμόλη	Ab	1 φιαλίδιο λυοφιλο- ποιημένο	4 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	μπλε	Προσθέστε 11 ml απεσταγμένου νερού		
Ab							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Διάλυμα πλύσης (TRIS- HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	4 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Οροί ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	4 φιαλίδια λυοφιλο- ποιημένο	ασημί	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού	
CONTROL	N						

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)
- Αναμεικτής 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 ¹²⁵I (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.

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

Δ. Διάλυμα πλύσης εργασίας: Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης 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 οροί ελέγχου παραμένουν σταθεροί επί 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 επί 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. ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης 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. Αναμείξτε 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 ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακριβείας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

- B. Διαδικασία**
- Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, δείγμα και ορό ελέγχου. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
 - Αναμίξτε για λίγο (με αναμεικτή στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, προαραιωμένα δείγματα και ορούς ελέγχου και διανείμετε 50 µl από έκαστο σε αντίστοιχα σωληνάρια.
 - Διανείμετε 200 µl T3 σημασμένου με ¹²⁵I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβάνοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total") .
 - Διανείμετε 100 µl αντι-T3 σε κάθε σωληνάριο, εκτός από τα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total") .
 - Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
 - Επωάστε για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση.
 - Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει 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 ¹²⁵I ["total"]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.

9. Αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
10. Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

I. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

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

3. 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.
4. Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν επίσης μέθοδοι με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.
5. Με αναγωγή των τιμών των δειγμάτων (B/B0 (%)), προσδιορίστε τις συγκεντρώσεις T3 των δειγμάτων από την καμπύλη βαθμονόμησης.
6. 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	cpm	B/Bo (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵ 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
- Υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών.
- Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων κάτω από τις μέσες καταμετρήσεις σε μηδενική δέσμευση, ήταν 0,1 nmol/l.

- 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 αντιδραστικότητα για την αντι-T3.

Γ. Ακρίβεια

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> ± T.A. (nmol/l)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> ± 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	Προστεθείς T3 (nmol/l)	Ανακτηθείς T3 (nmol/l)	Ανακτηθείς (%)
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 τελευταίου βαθμονομητή και δείγματος
- Όπως 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 κατεψυγμένα 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 αυτές 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, κυμαίνονταν 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 ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (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. Εξοπλισμός 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 ραδιοϊσότοπων. 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 ανθρώπινου 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 ανθρώπινου 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 αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο κιτ αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσώρευσης αζιδίου. 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 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., 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. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

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

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP1631	Αριθμός P.I.: 1700580/el	Αρ. αναθεώρησης: 100813/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

T3-RIA-CT

I. PRZEZNACZENIE

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

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. Nazwa firmowa:** DIAsource T3-RIA-CT
- B. Numer katalogowy:** KIP1631 : 96 oznaczeń
KIP1634 : 4 x 96 oznaczeń
- C. Wyprodukowano przez:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

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' trójiodotyronina (T3) krążą we krwi w większości związane z białkiem 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, eutyreoza 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 przeciwtarczycowe. 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 J¹²⁵ współzawodniczy z T3 o określoną ilość miejsc wiążących przeciwciała anti-T3, związanych z przeciwciałami kozimi i mysimi, unieruchomionymi na ścianie próbówki polistyrenowej. Po jednogodzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej reakcja współzawodnictwa jest przerywana przez aspirację. Następnie próbówki są płukane przy pomocy 2 ml roztworu płuczącego i aspirowane ponownie. Wykreślana jest krzywa kalibracyjna a stężenia T3 w próbkach są określane na podstawie nałożenia dawki na krzywą kalibracyjną.

V. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE

Odczynniki	Zestaw 96 oznaczeń	Zestaw 4 x 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstytucja
 Probówki opłaszczone GAM (kozie i mysie)	2 x 48	8 x 48	czarny	Gotowe do zastosowania
Ag 125I ZNACZNIK IZOTOPOWY: T3 oznakowany jodem ¹²⁵ (poziom HPLC) w buforze fosforanowym z kazeiną bydlęcą i azydkiem (<0,1%)	1 fiolka 21 ml 111 kBq	4 fioleki 21 ml 4x111 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania
CAL 0 Kalibrator zerowy w surowicy ludzkiej z tymolem	1 fiolka materiał liofilizowany	2 fioleki materiał liofilizowany	żółty	Dodać 0,5 ml wody destylowanej
CAL N Kalibratory - N = od 1 do 5 (dokładne wartości na etykietach fiolek) w surowicy ludzkiej z tymolem	5 fiolek materiał liofilizowany	10 fiolek materiał liofilizowany	żółty	Dodać 0,5 ml wody destylowanej
Ab Przeciwciała anti-T3 (monoklonalne) w buforze fosforanowym z albuminą z surowicy bydlęcej i tymolem	1 fiolka materiał liofilizowany	4 fioleki materiał liofilizowany	niebieski	Dodać 11 ml wody destylowanej
WASH SOLN CONC Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	1 fiolka 10 ml	4 fioleki 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
CONTROL N Kontrola - N = od 1 do 2 w surowicy ludzkiej z tymolem	2 . fiolek materiał liofilizowany	4 fioleki materiał liofilizowany	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej

Uwaga : Dla rozcieńczeń surowicy należy stosować kalibrator zerowy.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

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

- 1. Woda destylowana
- 2. Pipety do dozowania: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl i 2 ml (zaleca się korzystanie z dokładnych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
- 3. Mieszadło wirowe
- 4. Mieszadło magnetyczne
- 5. Wytłuszcarka do próbek (700 rpm)
- 6. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
- 7. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
- 8. Może być wykorzystywany jakiegokolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%)

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kalibratory:** Rekonstruować kalibratory 0-5 przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- B. **Kontrola:** Kontrola należy rekonstruować przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- C. **Anti-T3:** Rekonstruować anti-T3 przy pomocy 11 ml wody destylowanej.

- D. **Roboczy roztwór płuczący:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczącego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczącego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczący 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 etykietach, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rekonstytucji, kalibratory i kontrole zachowują trwałość przez 1 tydzień, pod warunkiem przechowywania 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, przeciwciała anti-T3 są stabilne przez 6 tygodni w temperaturze 2-8°C. **NIE ZAMRAŻAĆ.**
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczący powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znacznik izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiole 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

- Próbkę 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 upływie 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

- 1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontrole należy oznaczyć opłaszczoną próbkę w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 standardowe próbki.
- 2. Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 50 µl każdej substancji do odpowiednich próbek.
- 3. Do każdej próbki, w tym do próbek nieopłaszczonych do całkowitego zliczania, dodać po 200 µl T3 oznakowanego Jodem¹²⁵.
- 4. Do każdej próbki, poza próbkami do całkowitego zliczenia dodać 100 µl przeciwciał anti-T3.
- 5. Delikatnie potrząsnąć statywem w celu uwolnienia uwięzionych pęcherzyków powietrza.
- 6. Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej, nieprzerwanie wytrząsając.
- 7. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbki.
- 8. Przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczącego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i aspirować zawartość (lub odlać ją). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczącego należy unikać wytwarzania piany.
- 9. Pozostawić próbki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu.
- 10. Zliczać próbki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

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

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

- 3. Na 3 arkuszach półlogarytmicznych lub papierze milimetrowym wykreślić wartości (B/B₀(%)) dla każdego punktu kalibratora jako funkcję stężenia T3 każdego punktu kalibratora. Odrzucić oczywiste wartości graniczne.
- 4. 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.
- 5. Nakładając wartości (B/B₀ (%)) próbki należy określić stężenia T3 w próbkach z krzywej kalibracyjnej.
- 6. Dla każdego oznaczenia należy sprawdzić odsetek całkowitego związanego znacznika izotopowego przy braku nieoznakowanego T3 (B₀/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/Bo (%)
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

Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów. Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmierne stężenie dwóch odchyłeń standardowych poniżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym kształtowała się na poziomie 0,1 nmol/l.

B. Swoistość

Odsetki reaktywności krzyżowej uzyskane przez porównanie stężenia uzyskującego 50% hamowanie 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 trójiodotyreoctowy (TRIAC)	52
3,5 – dwujodo-L-tyrozyna	0,22

n.w. = niewykrywalne

Uwaga: tabela przedstawia reaktywność krzyżową dla anty-T3

C. Precyzja

PRECYZJA W SERII				PRECYZJA MIĘDZY SERIAMI			
Surowi ca	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Surowi ca	N	<X> ± 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	Stęż. teoretyczne (nmol/l)	Stęż. zmierzone (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 oplaszczonych próbek 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 eutyreoizie 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 ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (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, przeciwciał anty-HCV, anty-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa. Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydłęce 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 (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołowiem 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 thyrotoxikosis ; Thyrotoxikosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.
Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.

5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSAK – NIELSEN, K. (1974)
Acta – Endocrnol.
77, 71.

XVIII. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CALKOWITA LICZBA ZLICZEŃ µl	KALIBRATORY µl	PRÓBK I KONTROL E µl
Kalibratory (0 - 5)	-	50	-
Próbki , kontrole	-	-	50
Znacznik	200	200	200
Anty-T3	-	100	100
Inkubacja	1 godzinę w temperaturze pokojowej, nieprzerwanie wyrzäsając.		
Rozdzielenie Roboczy roztwór płuczący Rozdzielenie	-	Aspiracja (lub odlewanie) 2,0 ml Aspiracja (lub odlewanie)	
Zliczanie	Zliczanie probówek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIAsource: KIP1631	Numer P.I.: 1700580/en	Nr aktualizacji: 100813/1
-------------------------------------	---------------------------	------------------------------

Data wydania : 2010-08-13



Прочетете целия протокол преди употреба

T3-RIA-CT

I. УПОТРЕБА

Радиоимунно изследване за количествено измерване *in vitro* на човешки 3,5,3' трийодотиронин (Т3) в серум.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

- A. Патентовано име: DIAsource T3-RIA-CT Kit
- B. Каталожен номер: KIP1631: 96 теста
KIP1634: 4 x 96 теста
- C. Произведено от: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue De l'Industrie 8 B-1400 Nivelles, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)67 88.99.99 Факс: +32 (0)67 88.99.96

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 (Т4) и 3,5,3' трийодотиронин (Т3) циркулират в кръвотока, в повечето случаи свързани с плазмения протеин и тироксин-свързващия глобулин (TBG). Концентрацията на Т3 е много по-малка от тази на Т4, но метаболитната активност на първия е много по-голяма от тази на втория.

B. Клинични приложения

Определянето на Т3 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 Т3 и нормални нива на Т4. Увеличаването на нивата на Т3 без увеличаване на тези на Т4 е често пъти предвестник на повтаряща се тиреотоксикоза при лекувани преди това пациенти. При други пациенти еутиреоидизмът се приписва на нормални нива на Т3, въпреки че нивата на техния Т4 са аномални.

Определянето на Т3 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 Т3 се повишават по време на бременност, на лечение с естроген и хормонална терапия с контрацептиви. Когато нивата на Т3 успоредно на TBG се увеличават по аналогичен начин на нивата на Т4, то тези промени не са индикатор за изменение на състоянието на щитовидната жлеза.

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

Определено количество натоварен с ¹²⁵I ТЗ се конкурира с наличния в проба или калибратор андростендион, 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 едновременно 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 интерполация на дозата от калибрационната крива.

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти		Количес- тво 96 теста	Количес- тво 4x96 теста	Цветен код	Приготвяне	
 Епруветки, покрити с GAM (кози анти-тела против мишки)		2 x 48	8 x 48	черен	Готов за употреба	
Ag	¹²⁵ I	1 флакон 21 ml 111 kBq	4флакона 21 ml 4x111 kBq	червен	Готов за употреба	
ПРОСЛЕДЯВАЩО ВЕЩЕСТВО: ТЗ, натоварен с ¹²⁵ йод (HPLC скала) във фосфатен буфер с волски казеин и азид (<0.1%)						
CAL	0	1 флакон лиофилиз ирани	2 флакона лиофилиз ирани	жълт	Добавете 0,5 ml дестилирана вода	
Нулев Калибратор в човешки серум с тимол						
CAL	N	5 флакон лиофилиз ирани	10 флакона лиофилиз ирани	жълт	Добавете 0,5 ml дестилирана вода	
Калибратор - N = 1 до 5 (виж точните стойности на етикета на флаконите) в човешки серум с тимол						
Ab		1 флакон лиофилиз ирани	4 флакона лиофилиз ирани	син	Добавете 11 ml дестилирана вода	
Анти-ТЗ (моноклонални) антитела във фосфатен буфер с волски серумен албумин и тимол						
WASH	SOLN	CONC	1 флакон 10 ml	4 флакона 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
Измиващ разтвор (TRIS-HCl)						
CONTROL	N	2 флакона лиофилиз ирани	4 флакона лиофилиз ирани	сребърен	Добавете 0,5 ml дестилирана вода	
Контроли 1 и 2 в човешки серум с тимол						

Забележка: Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

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

- 1. Дестилирана вода
- 2. Пипети от: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl и 2 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с крайници за еднократна употреба).
- 3. Завихрящ смесител
- 4. Магнитен сепаратор
- 5. Клатещо устройство за епруветки (700 оборота в минута)
- 6. 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
- 7. Аспирационна система (по избор).
- 8. Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество ¹²⁵I (минимален капацитет от 70%)

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- A. **Калибратори** : Реконституирайте нулевия калибратор с 0,5 ml дестилирана вода, а останалите калибратори - с 0,5 ml дестилирана вода.
- B. **Контроли: Реконституирайте** контролите с 0,5 ml дестилирана вода.
- C. **Анти-ТЗ:** Реконституирайте анти-ТЗ с 11 ml дестилирана вода.
- D. **Работен измиващ разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измиващия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. 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 реконституиране, калибраторите и контролите са стабилни за срок от 7 дни при температури 2-8°C. За по-дълги срокове на съхранение, се определя повторно и се съхранява при температура -20 °C за максимум 3 месеца. Избягвайте 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.
- Избягвайте 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 партии китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура. Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно разклащане или въртеливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен крайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба. Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрили точността. Съобразявайте се с времето за инкубация. Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

B. Процедура

- 1. Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
- 2. Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 50 µl от всяко в съответните епруветки.
- 3. Разпределете 200 µl ТЗ, натоварен с ¹²⁵йод във всяка епруветка, включително в непокритите епруветки за общото преброяване.
- 4. Разпределете 100 µl анти-ТЗ във всяка епруветка, с изключение на тези за определяне на общия брой импулси.
- 5. Разклатете нежно с ръка контейнера с епруветките, за да освободите всяко останало въздушно мехурче.
- 6. Инкубирайте за 1 час на стайна температура и непрекъснато разклащане.
- 7. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
- 8. Измийте епруветките с 2 ml Работен Разтвор за измиване (с изключение на общия брой) и аспирирайте (или прелейте). Избягвайте разпенване по време на добавянето на Работния Разтвор за измиване.
- 9. Оставете епруветките в изправено положение за две минути и аспирирайте останалите капки течност.
- 10. Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- 1. Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
- 2. Изчислете свързващата радиоактивност като процент от свързването, определен при нулевата калибрационна точка (0) според следната формула :
- 3. Използвайки 3 циклична семи-логаритмична или logit-log графична хартия, нанесете (В/В0(%)) стойностите за всяка калибрационна точка като функция на ТЗ концентрацията на всяка калибрационна точка. Отхвърлете очевидните отклонения..

$$\frac{B}{B0} (\%) = \frac{\text{брой (Калибратор и проба)}}{\text{брой (Нулев Калибратор)}} \times 100$$

- 4. Компютърно асистиран метод също могат да бъдат използвани, за да се построи калибрационната крива. Ако се използва автоматичен метод на обработка на резултатите, се препоръчва подходяща 4-параметрова логистична крива.
- 5. Чрез интерполация на (В/В0 (%)) стойностите от пробата се определят ТЗ концентрации на пробите от калибрационната крива.
- 6. Процентът на общото проследяващо вещество, свързано при липса на ненатоварен ТЗ (В0/Т), 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.

ТЗ		срп	В/В0 (%)
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

Двадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил 0,1 pmol/l.

B. Специфичност

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

Съединение	Кръстосана реактивност (%)
L-3,3',5' - трийостиротин (L-T3)	100
3,3',5' - трийостиротин (rT3)	ND
L- тироксин (L-T4)	0,17
D- тироксин (D-T4)	0,04
3,3',5' - трийодотироacetна киселина (TRIAC)	52
3,5 – дийодо-L-тирозин	0,22

ND = неизмерим

Забележка: тази таблица показва кръстосаната реактивност за анти ТЗ

Г. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО				МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО			
Серум	N	<X> ± SD (nmol/l)	CV (%)	Серум	N	<X> ± 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 ТЗ (nmol/l)	Възстановен ТЗ (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 епруетка.

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 проби, 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 ТЗ при нелекувани субекти с еутиреоидизъм варират от 1.7 до 2.9 pmol/l (n=80).

XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.
Този набор съдържа ¹²⁵I (полуживот: 60 дни), емитиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (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 извършва в определена за целта територия, далеч от регулярни 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 радиоизотопи.

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, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.

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

Избягвайте какъвто 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 силна 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 еднократна употреба.

XVIII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ µl	КАЛИБРАТОРИ µl	ПРОБА (И) КОНТРОЛИ µl
Калибратори (0-5) Проби, контроли Трейсър Анти-ТЗ	- - 200 -	50 - 200 100	- 50 200 100
Инкубация	1 час на стайна температура при непрекъснато разклащане		
Сепарация Измиващ разтвор Сепарация	- - -	аспирирайте (или прелейте) 2.0 ml аспирирайте (или прелейте)	
Броене	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIASource каталог номер: KIP1631	P.I. номер: 1700580/bu	Номер на ревизия: 100813/1
-------------------------------------	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2010-08-13

XVII. БИБЛИОГРАФИЯ

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., 1, 609-611.

4. STERLING, K. Refetofd, S. (1970)
 T3 thyrotoxikosis ; Thyrotoxikosis due to Elevated Serum Triiodothyronine levels.
 Fertility and Sterility, 66, 6, 1033-1035.

5. KIRKEGAARD, O., FRUS, T., and SIERSACK – NIELSEN, K. (1974)
 Acta – Endocrnol. 77, 71.

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Buisjes	Röhrchen
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjuugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjuugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjuugaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjuugaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjuugaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjuugaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjuugaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Polietileno-glicol	Polyetylglykol
	Solução de Extracção	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stoplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιχνηθέτης	Markør
	Ιχνηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σωληνάρια	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<u>Stosowane symbole</u>	<u>Használt szimbólumok</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunadszorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietilén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extrakciós oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikro płytki	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
IVD	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
	Микротитърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер