

Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



User's Manual

T3, free RIA

Radioimmunoassay for the in vitro determination of free
Triiodothyronine in human serum and plasma

*Radioimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von freiem
Trijodthyronin in humanem Serum und Plasma*



DE06100/DE06300



100/300 tubes

EINLEITUNG

Trijodthyronin (T3) ist das wichtigste, biologisch aktive Schilddrüsenhormon. Ihm obliegt eine bedeutende Rolle im basalen Stoffwechsel. T3 wird von der Schilddrüse ausgeschüttet und über die periphere Dejodierung von Thyroxin (T4) hergestellt. Die Synthese und Ausschüttung des Schilddrüsenhormons wird durch das thyreoidea-stimulierende Hormon (TSH) das aus der Hypophyse freigesetzt wird, reguliert. Die Schilddrüsenhormone T3 & T4 kontrollieren die TSH Ausschüttung durch einen negativen Rückkopplungsmechanismus.(1) Im Blut zirkuliert T3 wie T4 gebunden an Bindungsproteine wie thyroxin-bindendes Globulin (TBG), thyroxin-bindendes Präalbumin (TBPA) und Albumin. Die freie T3 Konzentration, die ca. 0,3% der Gesamt Hormonkonzentration ausmacht, wird unabhängig von Änderungen in den Bindungsproteinen beibehalten. Durch die Bestimmung der freien T3 Konzentration im Serum kann der Schilddrüsenstatus und der zelluläre Metabolismus zuverlässig angezeigt werden.(2) Die T3 Konzentration ist bei euthyreoten Patienten, bei denen abnormale Bindungsproteinkonzentrationen vorliegen, normal. Es können Bindungsprotein-Konzentrationsverschiebungen auftreten bei kongenitalen Störungen, bei Behandlung mit Androgenen, oralen Östrogenen, Kontrazeptiva, sowie während der Schwangerschaft. Eine Hyperthyreose wird normalerweise begleitet von der Zunahme an freier T3- Konzentration und ist von Interesse in einigen Fällen der T3 Thyreotoxikose, bei der die Serum Konzentration von freiem T4 und TSH im Normalbereich liegen können.(3) Eine Hypothyreose mit verminderter freier T3 Konzentration kommt in einigen Fällen bei den sog. nicht-schilddrüsenbedingten Erkrankungen (NTI) vor, oder beim sog. Low-T3-Syndrom. (4) Die Bestimmung von freiem T3 erlaubt auch die Verlaufskontrolle von Patienten unter Thyroxin Behandlung oder T4-Suppressionstherapie.

TESTPRINZIP

Der FT3 RIA Assay ist ein kompetitiver Radioimmunoassay und dient der Bestimmung von freiem-T3. Er basiert auf der Technologie mit Gebrauch von markierten Antikörpern. Der für Trijodthyronin spezifische monoklonale Antikörper ist I-125-markiert. Die Probe wird mit diesem Antikörper in einem Röhrchen, welches mit einem T3-Analog (Ligand) beschichtet ist, inkubiert. Das freie Trijodthyronin der Probe und der Ligand konkurrieren um den Antikörper. Nach der Inkubation wird die Flüssigkeit abgesaugt und die gebundene Menge an Radioaktivität gemessen. Die Menge an gebundener Radioaktivität ist umgekehrt proportional zu der Menge an freiem Trijodthyronin in der Probe.

WARN- UND SICHERHEITSHINWEISE

Allgemeinhinweise

- Die Kalibrator- und Kontrollfläschchen sollten so kurz wie möglich geöffnet werden, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Die korrekte Einstellung des Schüttlers ist sehr wichtig für die Reproduzierbarkeit des Assays.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Jedes Röhrchen darf nur einmal verwendet werden.

Grundregeln der Handhabung von Radioaktivität

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Keine Mundpipette verwenden.
- Direkter Kontakt mit radioaktiven Materialien sollte durch Tragen entsprechender Schutzkleidung (Laborkittel, Handschuhe) vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muß in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien sollten in einem speziell gekennzeichneten Bereich gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.

- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metallaziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden.

Bestandteile menschlichen Ursprungs

Bestandteile menschlichen Ursprungs, die für diesen Kit verwendet wurden, sind auf HIV-1 und HIV-2 Antikörper, HCV Antikörper und Hepatitis B surface Antigen (HbsAg) getestet und als nicht reaktiv befunden wurden. Es ist so vorzugehen, als ob eine tatsächliche Ansteckungsgefahr bestünde. Keine Testmethode kann völlige Sicherheit bieten. Der Kit sollte mit allen notwendigen Sicherheitsvorkehrungen behandelt werden.

Mit allen Serum- und Plasmaproben ist so vorzugehen, als ob eine tatsächliche Ansteckungsgefahr für Hepatitis oder AIDS bestünde. Abfall sollte entsprechend den nationalen Richtlinien entsorgt werden.

PACKUNGSGEHALT

Reagenzienpackung ist ausreichend für 100 bzw. 300 Bestimmungen.

Die in der Packung enthaltenen Reagenzien sind bei 2-8°C haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum auf den Etiketten.

Nach dem Öffnen sind die Reagenzien verwendbar bis zur angegebenen Chargenlaufzeit auf der Reagenzpackung, wenn diese bei 2-8°C gelagert wird

Die auf den Flaschen- Etiketten angegebenen Tiefkühltemperaturen gelten nur für die Langzeitlagerung, bitte nicht beachten!!

SORB | CT 100 (300) Coated-Tubes, gebrauchsfertig

2 (6) x 50 ligand-beschichtete Coated-Tubes

Anti-T3 | I-125 I-125-Anti-T3-Antikörper Lösung; gebrauchsfertig

1(3) Flaschen mit jeweils 45,0 ml I-125 markierte monoklonale Anti-T3-Antikörper -Lösung (markiertes Immunglobulin in flüssiger Form mit Proteinen, 10 nM Natriumazid und Farbstoff)

Aktivität: (ab Herstellungsdatum) ≤ 225 kBq /pro Flasche

CAL Standards; gebrauchsfertig

1 Set mit 5 Flaschen und jeweils 1,0 ml Inhalt;

Die Fläschchen enthalten T3 in humanem Serum und Farbstoff.

Konzentrationsbereich : 0 bis ca. 45 pmol/L

Die genauen Konzentrationen sind der Packungsbeilage zu entnehmen.

CONTROL Kontrolle 1 & 2; gebrauchsfertig

2 Flaschen mit 1,0 ml Inhalt;

Der Konzentrationsbereich ist dem QC Datenblatt zu entnehmen.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Zur gewohnten Laborausstattung sind folgende Hilfsmittel notwendig:

- Mikropipette (100µl)
- Multipipette (400 µl)
- Schüttler (mind. 300 - 350 UpM)
- Absaugsystem bzw. Dekantierzubehör
- Gamma-Counter
- Vortex-Mixer

VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER PROBEN

Es können Serum- oder Plasmaproben (EDTA oder Heparin) mit diesem Assay bestimmt werden. Proben können bei 2-8°C bis zu 2 Tagen oder bei -20 °C für max. 3 Monate gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Das Auftauen der Proben sollte bei Raumtemperatur durchgeführt werden!

20 Serum- und EDTA-Plasmaproben (Serumwerte im Bereich zwischen 3.00 und 4.69 pmol/L) wurden in diesem FT3 RIA-Kit verglichen. Folgendes Ergebnis wurde ermittelt:

[Plasma] = 0.9844 [Serum] + 0.2172 r = 0.9060

TESTDURCHFÜHRUNG

Vorbereitung der Reagenzien

Die in der Packung enthaltenen Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen!

Standard- und Kontrollfläschchen nur so kurz wie möglich öffnen, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden!

Qualitätskontrolle und Hinweise zur Testdurchführung

Nur Reagenzien aus derselben Packung verwenden.

Proben und Reagenzien vor Verwendung sorgfältig mischen

Starke Schaumbildung vermeiden.

Für jeden Testansatz eine eigene Standardkurve erstellen

Es liegt in der Verantwortung des Labors Kontrollen und Proben als Doppel- oder Einzelbestimmung durchzuführen. Im Rahmen einer verantwortungsvollen Laborarbeit sollten Kontrollseren mitgeführt werden, um die Testdurchführung zu überprüfen.

ARBEITSANLEITUNG

Vorbereitung der benötigten Röhren (Coated Tubes)

Es wird empfohlen, den Testansatz in Doppelbestimmung durchzuführen.

- In jedes Röhren werden je 100 µl Standard, Kontrolle oder Probe pipettiert.
- Zu allen Röhren anschließend 400 µl der I-125- Tracer-Ak-Lösung pipettieren.
- Zur Messung der Totalaktivität werden 400 µl Tracer in zwei separate Röhren pipettiert.
- Inkubation aller Röhren für 120 Min bei Raumtemperatur (18-25 °C) und mäßigem, horizontalem Schütteln bei mind. 300 bis 350 Upm.
- Vollständiges Absaugen oder Dekantieren des Inhalts aller Röhren – außer denen zur Messung der Totalaktivität.
- Alle Röhren werden für 1 Min im Gamma-Counter gemessen.

ERGEBNISSE

Die meisten Gamma-Counter verfügen über eigene Auswerteprogramme, mit denen der freie-T3 Assay ausgewertet werden kann (RIA – Auswerteprogramm).

Bei der manuellen Auswertung wird folgendermaßen vorgegangen:

- Berechnung der Mittelwerte der Counts/Minute aus den Doppelbestimmungen
- Berechnung der Prozentualen Bindung der Standards, Kontrollen und Proben zu den Counts/Minute des 0-Standards nach der Formel:

$$\% \text{Bindung} = \frac{\text{Mittelwert Counts Std./ Ktrl./Probe}}{\text{Mittelwert Counts } B_0} \times 100$$

Die prozentualen Bindungen der Standards werden möglichst auf Logit-Log-Papier auf der y-Achse gegen die Konzentrationen der Standards auf der x-Achse eingetragen und die Punkte durch eine Kurve verbunden. Die Ergebnisse der Kontrollen und Proben können dann aus dieser Kurve ermittelt werden.

Berechnungsbeispiel:

Beschriftung	cpm 1	cpm 2	cpm / MW	B/B0%	B/TC: %
Totalaktivität	85346	86572	85959		
Standard 0 pmol/L	82257	81975	82116	100	95,5
Standard 2,1 pmol/L	68747	69131	68939	84,0	80,2
Standard 5,1 pmol/L	52361	52089	52225	63,6	60,8
Standard 10,4 pmol/L	34265	34443	34354	41,8	40,0
Standard 44,0 pmol/L	8799	8981	8890	10,8	10,3

Die hier gezeigten Werte gelten ausschließlich als Beispiel.

GRENZEN DES VERFAHRENS

Die mit diesem oder einem anderen diagnostischen Kit erhaltenen Ergebnisse sollten stets im Zusammenhang mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten und anderen diagnostischen Ergebnissen verwendet und interpretiert werden.

Keine hämolysierten, lipämischen oder trüben Proben verwenden.

ERWARTETE NORMALWERTE

Wir empfehlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwerte anhand von klinisch charakterisierten Proben ermittelt.

Die u.a. Bereiche gelten nur als Richtlinie. Die folgenden Bereiche wurden in mehreren Studien bei einer Gesamtzahl von 531 euthyreoten Patienten ermittelt.

3,2 - 7,2 pmol/L (2,1 - 4,7 pg/ml)

Umrechnungsfaktor: Ergebnis in pmol/l x 0,649 = Ergebnis in pg/ml

SPEZIFISCHE ASSAY CHARAKTERISTIKA (SIEHE AUCH ANNEX)**Sensitivität :**

Die analytische Sensitivität des Assays wurde durch 20-fache Messung des 0-Standards und des 2,1 pmol/L Standards als 2-fache Standardabweichung vom Nullstandard berechnet und beträgt 0,5 pmol/L.

Spezifität:**Spezifität des monoklonalen Anti-T3-Antikörpers**

Die Spezifität des hochspezifischen, monoklonalen anti-T3-Antikörpers wurde mit ¹²⁵I-markiertem T3 in einem kompetitiven RIA-Assay bestimmt.

Interferenzen in dem FT3 Assays durch verschiedene Analoga

Normales Humanserum (bestimmt als 3,7 pmol/L im FT3- Assay) wurde mit physiologischen und therapeutischen Konzentrationen von potentiell störenden Substanzen versehen. Die freie T3 Konzentration wurde im Assay gemessen und der interferierende Beitrag jeder Substanz wurde nach Subtraktion der ohne interferierende Moleküle gefundenen freien T3 Konzentration kalkuliert.

Präzision

Die Präzision wurde aus der Intra- und Inter-Assay-Varianz ermittelt. Es wurden 3 Seren mit unterschiedlichen Konzentrationen in Mehrfachbestimmung gemessen.

Intra-Assay VK% war jeweils kleiner oder gleich 6,4%.

Inter-Assay VK% war jeweils kleiner oder gleich 5,5%.

Toleranz:

Eine Verzögerung von ½ Stunde nach Beenden des Schüttelns und anschließenden Absaug-/Dekantiervorgangs hat keinen Einfluss auf die Testergebnisse.

Kurzanleitung							
			Bo	Standard	Kontrollen	Proben	Total-Aktivität
Pipettieren	Standard 1 (0-Std.)	µl	100				
	Standard 2 bis 5	µl		100			
	Kontrolle 1 & 2	µl			100		
	Pat.-Proben	µl				100	
	Tracer I-125	µl	400	400	400	400	400
Inkubieren	Durchmischen / Vortexen						
	120 Min bei RT schütteln (min. 300 – 350 upm)						
	Dekantieren bzw. Absaugen						
Messen	empfohlene Meßzeit : 1 Minute						

INTRODUCTION

Triiodothyronine (T3) is a major biologically active thyroid hormone. It is involved in the regulation of basal metabolism. T3 is secreted by the thyroid and formed by peripheral deiodination of thyroxine (T4). The synthesis and release of thyroid hormones is controlled by the thyroid-stimulating hormone (TSH) produced by the thyrotropic cells of the anterior pituitary. The thyroid hormones T3 & T4 control the secretion of TSH by negative feedback.(1) Similarly to T4, T3 circulates in the blood bound to the binding proteins, thyroxine-binding globulin (TBG), thyroxine-binding prealbumin (TBPA) and albumin. The free T3 concentration which represents about 0,3% of the total circulating hormone concentration, is maintained independently of changes of binding protein levels. The determination of free T3 concentration is a true measure of thyroid status and cellular metabolism.(2) The free T3 concentration is normal in euthyroid patients with abnormal binding protein levels. One finds changes in levels of binding proteins in certain congenital abnormalities and during pregnancy, use of androgens, oral estrogens or contraceptives. Hyperthyroidism is generally associated with an increase of free T3 concentration. Assessment of this value is of interest in some cases of T3-thyrotoxicosis when free T4 and TSH concentrations in the serum may be within the normal range.(3) A decreased free-T3 concentration indicates hypothyroidism. In certain several non-thyroidal-illness (NTI), decreased levels may also be found (low-T3-syndrome).(4) Determination of free-T3 concentration allows the follow-up of patients under replacement or suppressive therapy using T3.

PRINCIPLE OF THE ASSAY

The FT3 RIA assay for the determination of free T3 is based on the use of labeled monoclonal antibody. A monoclonal antibody, specific for triiodothyronine, is labeled with I-125. The sample is incubated with this antibody, in a tube coated with an analog of T3 (ligand). There is a competition between the free triiodothyronine of the sample and the ligand. The amount of radioactivity bound to the tube after the incubation then is inversely proportional to the amount of free triiodothyronine in the sample.

WARNING AND PRECAUTIONS

General remarks

- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- A standard curve must be included with each assay.
- The correct setting of the shaker is very important for the reproducibility of the assay.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Each tube must be used only once.

Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material is subject to the regulations of the country of use. Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
- No pipeting of radioactive solutions by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and laboratory overalls.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate place, distant from corridors and other busy places.
- Radioactive materials should be stored in the container provided in a designated area.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.

Sodium azide

Some reagents contain sodium azide as a preservative. Sodium azide can react with lead, copper or brass to form explosive metal azides. Dispose of the reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

Materials of human origin

The materials of human origin, contained in this kit, were found negative for the presence of antibodies to HIV 1 and HIV 2, antibodies to HCV, as well as of Hepatitis B surface antigen (HBsAg). However, they should be handled as if capable of transmitting disease. No known test method can offer total assurance that no virus is present. Handle this kit with all necessary precautions.

All serum and plasma samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS.

Waste should be discarded according to the country rules.

REAGENTS PROVIDED

The FT3 Assay contains sufficient reagents for 100 or 300 determinations.

All reagents are stable until the expiry date stated on kit, when stored at 2-8°C.

Do not mix reagents from different lots.

After reconstitution or use, the reagents are stable until the expiry date of the kit.

Expiry dates printed on vial labels apply to the long-term storage of components by the manufacturer only, prior to assembly of the kit. Do not take into account.

SORB | CT 100 (300) Ligand coated-tubes; ready for use.

2 (6) x 50 tubes Ligand-T3 coated-tubes

Anti-T3 | I-125 I-125-anti-T3 antibody solution; ready for use

1 (3) vials each contains 45,0 ml of labeled immunoglobulin in liquid form with protein, sodium azide (< 0.1 %) and a dye.

Activity: each vial contains less than 225 kBq (on date of manufacture)

CAL Calibrators; ready for use

1 Set with 5 vials, each contains 1,0 ml. The calibrator vials contain T3 in human serum.

The exact free-T3 concentrations are indicated on the Quality Control data sheet.

Concentration range is within 0 and ~ 45 pmol/L.

CONTROL Control 1 & 2; ready for use

2 control vials containing 1.0 ml FT3 in human serum.

The concentration expected is indicated on the Quality Control data sheet. Standards and control contain material of human origin. Handle these reagent as if they were potentially infectious (see § precautions)

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- Precision micropipette (100 µl)
- Repeating pipette (400 µl)
- Orbital or platform shaker (min.300 -350 rpm)
- Aspiration system or absorbent paper for decantation
- Gamma counter calibrated for 125 I
- "Vortex" type shaker.

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Collect blood in dry tubes or in tubes containing EDTA, if possible after fasting. If the assay is to be done within 48 hours, samples are kept at 2-8°C; For longer periods, keep frozen at -18°C/-20°C for max. 3 months. Frozen samples should be thawed at room temperature. Repeated freezing and thawing is to be avoided.

20 serum and EDTA-plasma samples (serum values ranging from 3.00 to 4.69 pmol/l) were compared and performed in this FT3 Assay. The result is as follows:

[EDTA-plasma] = 0.9844 [serum] + 0.2171 r = 0.906

ASSAY PROCEDURE**Preparation of reagents**

Reagents stored at 2-8°C must be brought to room temperature prior to use.

Only use reagents from the original Kit-Ch.-B-Lots.

Prepare coated-tubes in duplicate for: Standard, Controls and Samples.

Uncoated tubes are to be used for the total activity.

Calibrator and Control vials should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.

Protocol:

- Calibrators, controls and samples must be assayed at the same time.
- Prepare a series of tubes in duplicate
- Add to each tube 100 µl of calibrator, control or sample.
- Add 400 µl of tracer solution.
- Prepare separately two tubes containing only 400 µl of tracer in order to obtain total cpm (T).
- Incubate tubes for 120 min at room temperature (18-25°C) with mild horizontal shaking (min. 300 - 350 rpm). The correct setting of the shaker is very important for the reproducibility of the assay.
- Aspirate or decant contents of tubes (with exception of tubes T).
- Count the radioactivity in all tubes for 1 min 1 minute in gamma counter

RESULTS

In case of computer assisted analysis of free-T3, a special program suitable for radio-immunoassays is to be used.

Otherwise:

- Draw the calibration curve on logit-log or semi-log graph by plotting the B/B0% obtained for each standard (y-axis) against the relative concentration (x-axis).
- Calculate the B/B0% of each sample and read the free-T3 concentration in pmol/L, by interpolating on the calibrator curve.
- Percent binding for calibrators, controls and samples =

$$\text{Binding \%} = \frac{\text{Mean cpm of Cal. /Ctrl. / Sample}}{\text{Mean cpm B0}} \times 100$$

Example of Calculation:

The values shown below only are to be considered as an example.

Tubes	cpm 1	cpm 2	cpm / MW	B/B0%	B/TC:%
Total-Activity	85346	86572	85959		
Calibrator 0 pmol/L	82257	81975	82116	100	95.5
Calibrator 2.1 pmol/L	68747	69131	68939	84.0	80.2
Calibrator 5.1 pmol/L	52361	52089	52225	63.6	60.8
Calibrator 10.4 pmol/L	34265	34443	34354	41.8	40.0
Calibrator 44.0 pmol/L	8799	8981	8890	10.8	10.3

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Strict observation of the procedure is suggested.
- It is recommended not to use specimens collected over heparin. Such specimens show reduced free-T3 concentrations.
- Decreased free-T3 concentrations may be observed in euthyroid patient with severe non-thyroid diseases.
- The reagents provided in this kit are intended only for the specific determination of free-T3 in human serum or plasma. Any other uses, such as animal research, should be validated independently by the user.
- Special care should be taken when interpreting results from hemolysed or icteric samples, as the method has not been tested with such samples

EXPECTED VALUES

Laboratories should establish their own reference values. The following values were determined in several studies on 531 sera from euthyroid individuals:

3.2 - 7.2 pmol/L (2.1 - 4.7 pg/ml)

To convert pmol/L into pg/ml, multiply results by 0.649.

ASSAY CHARACTERISTICS (SEE ANNEX FOR DETAILS)**Sensitivity**

The analytical sensitivity is defined as the concentration of free-T3 corresponding to a B/T equal to B0 minus two standard deviation obtained in 20 assays of the zero and 2.1 pM calibrators.

The analytical sensitivity is: 0.5 pmol/l (mean value +/- 2 S.D.)

The functional sensitivity is: 1.0 pmol/l

Specificity:**Specificity of the monoclonal anti-T3 antibody**

The specificity of the monoclonal antibody was determined by a competition RIA, using I-125 labelled T3.

Interference by different analogs with assay of free T3

Pooled normal human serum (assayed as 3.7 pmol/L in free-T3) was complemented with physiological or therapeutic concentrations of potentially interfering molecules. The free-T3 concentration was measured with the kit and the interfering contribution of each substance was calculated by subtraction of the free T3 concentration obtained in the absence of the interfering molecule.

Precision

Intra-assay and inter-assay variation were determined by assaying of three sera:

Intra-assay CV% was calculate $\leq 6.4\%$.

Inter-assay CV% was calculate $\leq 5.5\%$.

Leeway:

A delay of half an hour between the stopping of shaking (end of incubation) and aspiration of the tubes does not affect the result of the assay.

Short Instruction							
			Bo	Calibrators	Controls	Samples	Total-activity
Pipette:	Calibrator 1 (0-Std.)	μ l	100				
	Calibrator 2 - 5	μ l		100			
	Control 1 & 2	μ l			100		
	Samples	μ l				100	
Pipette:	Tracer I-125	μ l	400	400	400	400	400
Mix or vortex							
Incubate:	120 Min at RT shaking (min. 300 – 350 rpm)						
Aspirate or Decant							
Measure:	Recommended Measuring time : 1 Minute						

APPENDIX**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Specificity

The specificity of the monoclonal antibody was determined by a competition RIA, using labeled T3 and the following compounds:

Analog	Cross-reactivity (%)
L-3,3',5-triiodothyronine (T3)	100
L-3,3',5-triiodothyroacetic acid	100
L-3,3',5'-triiodothyronine (T3r)	0.03
L-thyroxine	0.15
D-thyroxine	0.07

Effective contribution to concentration of free thyroxine measured

Pooled normal human serum (assayed as 3.7 pM in free T3) was complemented with physiological or therapeutic concentrations of potentially interfering molecules. The free T3 concentration was measured with the Demeditec kit and the interfering contribution of each substance was calculated by subtraction of the free T3 concentration obtained in the absence of the interfering molecule.

Analog	Added	Free T3 equivalent (pM)
L-3,3',5-triiodothyronine (T3)	0.62 nM	< 0.1
L-3,3',5' -Triiodothyroacetic acid	0.089 nM	0.2
Mono-iodo-tyrosine	0.23 nM	< 0.1
Di-iodo-tyrosine	0.17 nM	0.2
Sodium Salicylate	1.25 mM	0.4

Precision**Intra-assay**

Serum	S1	S2	S3
Number of determinations	15	15	15
Mean value (pM)	2.91	4.85	12.33
C.V., %	5.15	5.34	6.40

EDTA-plasma	P1	P2	P3
Number of determinations	25	25	25
Mean value (pM)	3.09	9.99	19.07
C.V., %	3.94	6.50	4.11

Inter-assays

Serum	S1	S2	S3
Number of determinations	10	10	10
Mean value (pM)	2.71	4.45	11.3
C.V., %	5.53	5.50	3.62

EDTA-plasma	P1	P2	P3
Number of determinations	10	10	10
Mean value (pM)	1.77	16.73	30.63
C.V., %	12.18	5.24	4.19

125I Characteristics

T_{1/2} (125I) = 1443 h = 60.14 d

125I	E (MeV)	%
γ	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25

BIBLIOGRAPHY




PIERCE J.G. & PARSONS T.F. Glycoprotein hormones: structure and Function. Annual Review of Biochemistry (1981) 50, 465-495

EKINS R.P. Free hormones in blood: the concept and the measurement. Journal of Clinical Immunoassay (1984) 7, 163-180

SURKS M.I., Chopra I.J., MARIASH N.C., NICOLOFF J.T., SOLOMON D.H. American Thyroid Association Guideline for use of laboratory tests in Thyroid Disorders. The Journal of the American Medical Association, (1990), 263, 1259-1532

LIEWENDAHL K., TIKANOJA H. MAHONEN H., HELENIUS T., VALIMAKI M., TALIGREN L.G. Concentrations of iodothyronines in serum of patients with chronic renal failure and other non thyroidal illnesses: role of free fatty acids Clinical Chemistry (1987) 33, 1382-1386

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Français	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Ussage Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Temperature de conservation	Temperatura de conservacion	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore