

Anti-hTPO [I-125] RIA KIT**RK-36CT.**

Estuche para 100 determinaciones

Juego de reactivos para la determinación cuantitativa *in vitro* de autoanticuerpos anti-Peroxidasa Tiroidea en suero humano, en el rango de 0-1900 UI/mL.

Introducción

La Peroxidasa Tiroidea humana (hTPO) es una glicoproteína de alto peso molecular (105 kDa) que se encuentra en las células foliculares de la glándula tiroidea. Su función biológica fundamental es catalizar la reacción oxidativa necesaria para la incorporación del yodo inorgánico durante el proceso de síntesis de las hormonas tiroideas.

Las enfermedades tiroideas tienen en su mayoría un origen autoinmune y se encuentran asociadas a la producción de los autoanticuerpos anti-Tiroglobulina, anti-Peroxidasa Tiroidea y antirreceptor del TSH. Las concentraciones más elevadas de anti-hTPO se pueden observar en la tiroiditis de Hashimoto. También se pueden detectar estos anticuerpos en la enfermedad de Graves, en el mixedema idiopático, en la tiroiditis atrófica crónica, en el carcinoma tiroideo, en pacientes con otras enfermedades autoinmunes (enfermedad de Addison, anemia perniciosa, diabetes mellitus tipo I, etc) y en algunos individuos sanos.

La elevación de los niveles de anti-hTPO es un indicador precoz del desarrollo de la tiroiditis. Se ha demostrado la presencia de estos autoanticuerpos durante el primer trimestre del embarazo en pacientes con tiroiditis postparto, así como en pacientes con una historia familiar de tiroiditis autoinmune.

Principio del ensayo

Este ensayo está basado en una reacción competitiva entre los autoanticuerpos anti-hTPO, presentes en las muestras y calibradores, con una cantidad fija de anti-hTPO presente en los tubos recubiertos, por una cantidad limitada de hTPO marcada con ¹²⁵I.

El inmuno-complejo se inmoviliza en la superficie de los tubos recubiertos durante un período de incubación de 2 horas bajo agitación constante. Después de la incubación se lavan y decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma. La concentración del autoanticuerpo es inversamente proporcional a la radiactividad medida en los tubos. Utilizando los calibradores de concentración conocida de anti-hTPO, se prepara una curva estándar a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de anti-hTPO presente en las muestras.

Contenido del juego

1. TRAZADOR, 2 frascos listos para usar con 16 mL cada uno, contiene < 130 kBq/frasco de hTPO marcada con ¹²⁵I en solución tampón con 0,1 % NaN₃ y colorante rojo.

2. CALIBRADORES (S0-S5), 6 frascos listos para usar con 0,75 mL de plasma humano y 0,1% NaN₃. Los calibradores contienen: 0, 15, 50, 170, 600, 1900 UI/mL de anti-hTPO, respectivamente, y han sido calibrados contra el estándar de referencia internacional NIBSC 66/387.

3. SUERO CONTROL (CI-CII), 2 frascos listos para usar, contienen 0,75 mL de plasma humano con 0,1% NaN₃. La concentración de los controles está especificada en el certificado de calidad incluido.

4. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 tubos de 12x75 mm, recubiertos con anticuerpo policlonal humano anti-hTPO, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (10 x 300 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma

Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (300 y 1000 µL). Jeringa automática (dispensador) para el lavado.

Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis se efectuará dentro de las 24 horas siguientes a su recolección, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C hasta cuatro meses. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

Preparación y conservación de los reactivos

Conservar los reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada reactivo es estable hasta la fecha de vencimiento del juego. La fecha de caducidad exacta se especifica en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad.

¡PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Homogenizar completamente los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

Procedimiento para el ensayo

(Ver *Tabla 1.*)

1. Rotular los tubos recubiertos por duplicado para cada calibrador (S0-S5), controles (CI-CII) y muestras (Mx). Opcionalmente, marcar dos tubos no recubiertos para los totales (T).
2. Añadir por duplicado 10 µL de calibrador, controles y muestras en los tubos apropiados.
3. Añadir 300 µL de trazador en cada tubo.

4. Fijar la gradilla con los tubos de ensayo firmemente en el agitador horizontal. Cubrir los tubos con una lámina de polietileno. Encender el agitador y ajustar la velocidad de manera tal que el líquido en los tubos esté rotando o agitándose constantemente.
5. Incubar los tubos en el agitador durante 2 horas a temperatura ambiente.
6. Añadir 1 mL de agua destilada a cada tubo.
7. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
9. Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma.
10. Calcular la concentración de anti-hTPO en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (*volúmenes en microlitros*)

	T	S0-S5	CI, CII	Mx
Calibrador		10		
Control			10	
Muestra				10
Trazador	300	300	300	300
Agitar 2 horas a temperatura ambiente				
Agua destilada		1000	1000	1000
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Procesar los datos				

Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 y la figura 1 se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo.

Para los cálculos:

Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos.

Calcular el porcentaje B₀/T% para el calibrador de concentración cero (S0) según la ecuación siguiente:

$$S_0 \text{ (cpm)}$$

$$B_0/T\% = \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100$$

$$T \text{ (cpm)}$$

B₀/T% es un parámetro opcional del control de calidad, no necesario para la determinación de la concentración de las muestras.

Calcular el porcentaje de unión para cada calibrador, control y muestra, utilizando la siguiente ecuación:

$$S_{1-5} / C / M_x \text{ (cpm)}$$

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100$$

$$S_0(\text{cpm})$$

Plotear los porcentajes B/B₀ (%) contra la concentración de anti-hTPO de cada calibrador en un papel semilogarítmico. Determinar la concentración de anti-hTPO en las muestras por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva.

Para el procesamiento automatizado de los datos pueden utilizarse programas de ajuste tipo spline o logit-log.

Tabla 2. Datos típicos del ensayo

Tubos	Media cpm	B/Bo%	UI/mL
T	82 863		
S0	42 890	100	
S1	34 946	81,5	
S2	24 827	57,9	
S3	11 200	26,1	
S4	4 404	10,3	
S5	1 823	4,3	
CI	21 880		63,7
CII	12 125		171,4

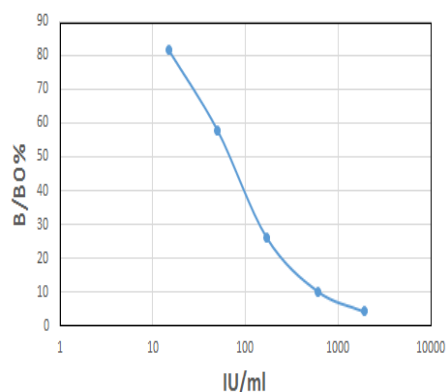


Figura 1.

Ejemplo de curva estándar

(No utilizar para calcular valores de las muestras)

Características del ensayo

Sensibilidad

Los límites de medición fueron determinados según la guía EP17-A2 del CLSI.

LoB = 4,60 UI/mL, determinado como el resultado de medición más alto que es probable que se observe (con una probabilidad establecida [5%]) para una muestra blanco. Se determinó en 5 muestras blanco, con 180 réplicas.

LoD = 7,26 UI/mL, determinado con proporciones de falsos positivos (α) inferiores al 5 % y falsos negativos (β) inferiores al 5 %, en base a 238 determinaciones, con 8 muestras de bajo nivel.

La sensibilidad funcional (**LoQ**) es de **10 UI/mL**, determinada por extrapolación del 20% del perfil de precisión inter-ensayo.

Precisión

La precisión intra-ensayo se determinó a partir de 20 réplicas de 6 muestras, medidas en una serie. Para determinar la precisión inter-ensayo se midieron por duplicado 6 muestras, en 20 series independientes. Los valores obtenidos se muestran a continuación.

Intra-ensayo		Inter-ensayo	
Media (UI/mL)	CV %	Media (UI/mL)	CV %
743	5,6	900	9,1
415	8,2	445	6,5
76	9,3	79	6,2
34	5,9	36	8,3
16	11,7	16	10,9
12	10,1	12	15,2

Prueba de dilución (linealidad)

Se diluyeron serialmente 2 muestras con calibrador cero y se sometieron a ensayo. La recuperación media después de la dilución fue de 95% y 112%, respectivamente. Debido a la heterogeneidad inherente de los autoanticuerpos en el suero humano con respecto a epítomos y afinidad, algunas muestras pueden no diluirse linealmente.

Valores de referencia

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia. Los resultados deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluyendo su historia clínica y los datos de otras pruebas diagnósticas adicionales.

El valor de corte fue determinado como el valor mayor que el 94% de los resultados obtenidos para 279 donantes de sangre aparentemente saludables. Según estos resultados, se pueden considerar como patológicos los valores superiores a **25 UI/mL** en la población evaluada.

Interferencia

No se observa interferencia hasta las siguientes concentraciones:

Bilirrubina = 143 μ mol/L,

Triglicéridos = 27 mmol/L,

Hemoglobina = 12.2 g/L,

Biotina = 1600 ng/mL

Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición de anti-hTPO en suero humano.
- Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.
- Las muestras de concentración superior a 1900 UI/mL deben ser diluidas con el calibrador de concentración cero (S0) y reanalizadas.
- Los resultados solo deben ser interpretados dentro del contexto clínico apropiado y nunca como prueba única e infalible de anomalía o enfermedad.

Notas acerca del procedimiento

1) **Fuente de error!** Los tubos recubiertos no están marcados individualmente. Se debe evitar la mezcla con tubos de ensayo comunes. Para minimizar este riesgo, no se deben sacar de la caja más tubos de los necesarios, de igual manera los tubos no utilizados en una serie deben ser guardados de nuevo en su caja. Se recomienda rotular los tubos con marcador permanente.

2) **Fuente de error!** Para asegurar la agitación eficiente de los tubos se debe utilizar una gradilla que los ajuste firmemente. Una agitación inadecuada puede provocar un rendimiento deficiente del ensayo y falsos resultados.

¡Atención! No mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante

Precauciones

Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.

Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como material potencialmente infeccioso.

Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservante. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 38 mg de azida sódica.

	Fecha de vencimiento	LOT	Número de lote
	Almacenar entre 2 y 8 °C	CONTROL	Suero Control
	Precaución	CAL	Calibrador
	Peligro biológico	CT	Tubos recubiertos
	Consulte las instrucciones	TRAC	Trazador
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>	REF	Número de referencia
	Fabricante		Material radiactivo



Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>
 E-mail técnico: immuno@izotop.hu
 E-mail comercial: commerce@izotop.hu

IZOTOP

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: +36 1 392-2577, Fax: +36 1 395-9247

Edición: Agosto/2023