

## T4 [I-125] RIA KIT

RK-11CT1. Estuche para 100 determinaciones

Juego de reactivos para la determinación cuantitativa *in vitro* de la tiroxina (T<sub>4</sub>) total en suero humano, en el rango de 0-320 nmol/L (0-24,9 µg/dL).

### Introducción

La tiroxina (3,3',5,5'-tetrayodotironina, T<sub>4</sub>) es la hormona activa primaria sintetizada en las células foliculares de la glándula tiroidea. Su masa molecular es de 777 g.

En el torrente sanguíneo, ~70% de la T<sub>4</sub> se encuentra unida a la globulina enlazadora de tiroxina (TBG), un 15-25% a la transtiretina, un 5-15% a la albúmina y un pequeño porcentaje a los eritrocitos. Menos de un 0,1% de la tiroxina circula libre.

La T<sub>4</sub> se une a receptores celulares específicos y posee diversos efectos celulares y somáticos. Se cataboliza a través de varios procesos que incluyen yododación, transaminación seguida de descarboxilación oxidativa y conjugación.

La concentración sérica de la tiroxina es un indicador sensible del funcionamiento de la glándula tiroidea. Los niveles de T<sub>4</sub> disminuyen en el hipotiroidismo y aumentan en el hipertiroidismo. Se pueden observar además concentraciones elevadas de T<sub>4</sub> durante el embarazo, el uso de anticonceptivos y la terapia estrogénica, mientras que la deficiencia hepática, la nefrosis y la terapia androgénica pueden ocasionar concentraciones disminuidas de T<sub>4</sub>.

### Principio del ensayo

Este ensayo está basado en una reacción competitiva entre la T<sub>4</sub> no marcada, presente en las muestras y calibradores, con una cantidad fija de T<sub>4</sub> marcada con <sup>125</sup>I por un número limitado de sitios de unión al anticuerpo anti-T<sub>4</sub>. La cantidad de T<sub>4</sub> marcada con <sup>125</sup>I que se une al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de T<sub>4</sub> no marcada presente en las muestras.

El inmuno-complejo se inmoviliza en la superficie reactiva de los tubos de ensayo durante un período de incubación de 2 horas bajo agitación constante. Después de la incubación se decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma. La concentración del antígeno es inversamente proporcional a la radiactividad medida en los tubos. Utilizando los calibradores de concentración conocida de T<sub>4</sub>, se prepara una curva estándar a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de T<sub>4</sub> presente en las muestras.

### Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco con 11 mL, listo para usar, contiene < 260 kBq de T<sub>4</sub> marcada con <sup>125</sup>I en solución tampón con 0,1 % NaN<sub>3</sub> y colorante rojo.
2. ANTISUERO, 1 frasco con 105 mL listo para usar, contiene anti-T<sub>4</sub> IgG en solución tampón con colorante azul y 0,1 % Kathon-CG.

3. CALIBRADORES (S1-S6), 6 frascos listos para usar con 0,5 mL de suero humano y 0,1% NaN<sub>3</sub>. Los calibradores contienen: 0; 30; 60; 120; 200; 320 nmol/L de T<sub>4</sub>, respectivamente. Los calibradores están verificados con un estándar de referencia interno.

4. SUERO CONTROL, 1 frasco, contiene 0,5 mL de suero humano liofilizado con 0,1% NaN<sub>3</sub>. La concentración del suero control está especificada en el certificado de calidad incluido.

5. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

### Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (25, 100, 1000 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma

### Materiales y equipos recomendados:

Pipetas de repetición (100 y 1000 µL)

### 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 4 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 componente 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.

El suero control se reconstituye con 500 µL de agua destilada. Para ello se debe mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Permitir que la solución alcance la temperatura ambiente (20 a 30 °C) antes de su uso. Para usos posteriores, conservar entre 2 y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.

### ¡PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente (mín. 1 h). 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 (S1-S6), suero control (C) y muestras (M). Opcionalmente, marcar dos tubos no recubiertos para los totales (T).

2. Añadir por duplicado 25 µL de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados.
3. Añadir 100 µL de trazador en cada tubo.
4. Añadir 1000 µL de antisuero en todos los tubos excepto T.
5. 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.
6. Incubar los tubos en el agitador durante 2 horas a temperatura ambiente.
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.
8. Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma.
9. Calcular la concentración de T<sub>4</sub> en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S1-S6	C	M
Calibrador		25		
Control			25	
Muestras				25
Trazador	100	100	100	100
Antisuero		1000	1000	1000
Agitar 2 horas a temperatura ambiente				
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Calcular los resultados				

### 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 B<sub>0</sub>/T% para el calibrador de concentración cero (S<sub>1</sub>) según la ecuación siguiente:

$$S_1 \text{ (cpm)}$$

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

B<sub>0</sub>/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:

$$S_{2-6} / C / M_x \text{ (cpm)}$$

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

Plotear los porcentajes B/B<sub>0</sub> (%) contra la concentración de T<sub>4</sub> de cada calibrador en un papel semi-logarítmico. Determinar la concentración de T<sub>4</sub> 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.

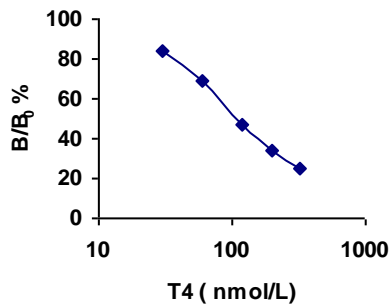


Figura 1.

Ejemplo de curva estándar

(¡No utilizar para calcular valores de las muestras!)

Tabla 2. Datos típicos del ensayo

Tubos	Conteos cpm	Media cpm	B/T%	B/B <sub>0</sub> %
T	96569 97401	96985		
S1	55229 54799	55014	56,7	100,0
S2	46319 46178	46249	47,7	84,1
S3	38211 37477	37844	39,0	68,8
S4	26413 25849	26131	26,9	47,5
S5	18928 18748	18838	19,4	34,2
S6	13624 13873	13749	14,2	25,0
C	31304 30608	30956	31,9	56,3

## Características del ensayo

### Sensibilidad

La sensibilidad analítica es de 7 nmol/L. Este valor corresponde a la suma de la media y dos desviaciones estándar de 10 réplicas del calibrador cero (S1).

### Especificidad

Los valores de reacción cruzada están estimados como el cociente de la concentración de T<sub>4</sub> (multiplicada por 100) sobre la concentración de la sustancia evaluada, cuando ambas ocasionan un 50% de desplazamiento.

Tiroxina (T <sub>4</sub> )	100 %
3,5,3'-L-triyodotironina (T <sub>3</sub> )	<12,6 %
3',5',3'-triyodo-L-tironina (rT <sub>3</sub> )	<0,95 %
3,3'-diyodo-L-tironina (3,3'-T <sub>2</sub> )	<0,11 %

### Precisión

La precisión intra-ensayo se determinó a partir de 10 réplicas de 5 muestras, medidas en una serie. Para determinar la precisión inter-ensayo se midieron por duplicado 5 muestras, en 6 series independientes. Los valores obtenidos se muestran a continuación.

Intra-ensayo		Inter-ensayo	
Media nmol/L	CV%	Media nmol/L	CV%
67,6	6,8	43,8	3,4
88,8	3,0	88,1	2,8
161,5	4,7	90,1	3,8
203,5	2,9	185,6	6,0
262,0	2,3	270,5	3,1

## Prueba de Recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir concentraciones conocidas de T<sub>4</sub> a 5 muestras de suero con concentraciones endógenas diferentes. La recuperación obtenida fue de 98,2% ± 2,9% (media ± SD).

## Valores de referencia

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia. Los valores presentados a continuación fueron determinados por duplicado en donantes de sangre aparentemente saludables.

En una población de 120 mujeres adultas las concentraciones séricas de T<sub>4</sub> fueron 99,2 nmol/L ± 26,3 (media ± SD), con mínimos y máximos de 51,8 y 178,4, respectivamente. Estadísticamente, los valores entre 60 - 170 nmol/L (4,66 - 13,2 µg/dL) pueden ser interpretados como rango normal.

En una población de 118 varones adultos las concentraciones séricas de T<sub>4</sub> fueron 94,9 nmol/L ± 19,4 (media ± SD), con mínimos y máximos de 23,7 y 153, respectivamente. Estadísticamente, los valores entre 55 - 130 nmol/L (4,27 - 10,1 µg/dL) pueden ser interpretados como rango normal.

Para el total de hombres y mujeres (n=238) la concentración media (±SD) de T<sub>4</sub> fue 97,1 nmol/L ± 23,1. Estadísticamente, se obtuvo un rango de referencia general de 55 - 170 nmol/L (4,27 - 13,2 µg/dL) para sujetos normales.

## Interferencias

No se observa interferencia hasta las siguientes concentraciones:

Bilirrubina = 190 µmol/L,  
Triglicéridos = 11 mmol/L,  
Hemoglobina = 12,6 g/L,  
Biotina = 400 ng/mL.

## Conversión de las unidades de medida

1 nmol/L = 0,078 µg/dL  
1 µg/dL = 12,82 nmol/L

## Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición de T<sub>4</sub> en suero.
- Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.
- 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*.

Todos los productos y derivados de origen animal provienen de animales saludables. No obstante, los componentes que contienen suero animal deben considerarse 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 14,5 mg de azida sódica.

**MSDS:** La hoja de datos de seguridad está disponible públicamente en el sitio web [www.izotop.hu/immunoassay](http://www.izotop.hu/immunoassay).

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



Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>  
E-mail técnico: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)  
E-mail comercial: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**  
INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.  
1535 Budapest. Pf.: 851.  
Tel.: +36 1 392-2577, Fax: +36 1 395-9247

Edición: Septiembre/2024