

FT₄ [l-125] RIA KIT

RK-349CT. Estuche para 100 determinaciones

Juego de reactivos para la determinación cuantitativa *in vitro* de la Tiroxina libre (FT₄) en suero humano, en el rango de 0-80 pmol/L (0-6,22 ng/dL).

Este kit puede ser procesado en equipos automatizados de RIA.

Introducción

La Tiroxina (3,3',5,5'-tetrayodotironina, T₄) 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 la T₄ se encuentra mayormente unida a proteínas y sólo un 0,03% de la hormona total se encuentra en forma no enlazada o libre. La hormona libre (FT₄) es responsable por la actividad biológica. Su concentración se eleva en el hipertiroidismo y disminuye en el hipotiroidismo.

La concentración sérica de la FT₄ está estrechamente correlacionada con la secreción y el metabolismo de la T₄. Los niveles de FT₄ permanecen dentro del rango eutiroideo en los estados asociados a cambios en las proteínas de transporte, como el embarazo, la terapia estrogénica y androgénica, el uso de anticonceptivos y de ciertos fármacos, al contrario de las variaciones que estos producen en la concentración de la hormona total.

La determinación de los niveles de FT₄ puede ser el indicador más sensible del funcionamiento de la glándula tiroidea, principalmente en los casos de diagnóstico dudoso. Los resultados obtenidos dependen estrechamente del método de medición.

Principio del ensayo

Este ensayo está basado en una reacción competitiva entre la FT₄, presente en las muestras y calibradores, con una cantidad fija de conjugado (tubos recubiertos con análogo de T₄) por un número limitado de sitios de unión al anticuerpo anti-T₄ marcado con ¹²⁵I. El inmuno-complejo se inmoviliza en la superficie reactiva de los tubos de ensayo durante un período de incubación de 1 hora 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 FT₄, se prepara una curva estándar a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de FT₄ presente en las muestras.

Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco con 22 mL, listo para usar, contiene < 260 kBq de anti-T₄ monoclonal marcado con ¹²⁵I en solución tampón con 0,1 % NaN₃ y colorante rojo.

2. CALIBRADORES (S1-S6), 6 frascos listos para usar con 1 mL de suero humano y 0,1% NaN₃. Los calibradores contienen aproximadamente: 0; 5; 10; 20; 40; 80 pmol/L

de FT₄, respectivamente. *La concentración exacta de los calibradores está especificada en el certificado de calidad incluido.*

3. SUERO CONTROL (CI, CII), 2 frascos listos para usar, con 1 mL de suero humano y 0,1% NaN₃. Los controles contienen aproximadamente 15 pmol/L y 35 pmol/L de FT₄, respectivamente. *La concentración de los controles está especificada en el certificado de calidad incluido.*

4. 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 (50 y 200 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma, agua destilada.

Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (200 µL), jeringa automática (dispensador) o pipeta de repetición (1 mL) 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 tres meses. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

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.)

- Rotular los tubos recubiertos por duplicado para cada calibrador (S1-S6), controles (CI-CII) y muestras (M). Opcionalmente, marcar dos tubos no recubiertos para los totales (T).
- Añadir por duplicado **50 µL** de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados.
- Añadir **200 µL** de trazador en todos los tubos.
- 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.
- Incubar los tubos en el agitador durante 1 hora a temperatura ambiente.
- 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.

- Añadir 1 mL de agua destilada a cada tubo. Repetir el paso 6.
- Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma.
- Calcular la concentración de FT₄ en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S1-S6	CI-CII	M
Calibrador		50		
Controles			50	
Muestras				50
Trazador	200	200	200	200
Agitar 1 hora a temperatura ambiente				
Decantar y secar en papel absorbente				
Agua destilada		1000	1000	1000
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 B₀/T% para el calibrador de concentración cero (S₁) según la ecuación siguiente:

$$B_0/T\% = \frac{S_1 \text{ (cpm)}}{T \text{ (cpm)}} \times 100$$

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:

$$B/B_0(\%) = \frac{S_{2-6} / C / M_x \text{ (cpm)}}{S_1 \text{ (cpm)}} \times 100$$

Plotear los porcentajes B/B₀ (%) contra la concentración de FT₄ de cada calibrador en un papel semi-logarítmico. Determinar la concentración de FT₄ 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/T%	B/B ₀ %
T	100051		
S1	69299	69,3	100,0
S2	59707	59,7	86,2
S3	49298	49,3	71,1
S4	34125	34,1	49,2
S5	12381	12,4	17,9
S6	2690	2,7	3,9
CI	41283	41,3	59,6
CII	18168	18,2	26,2

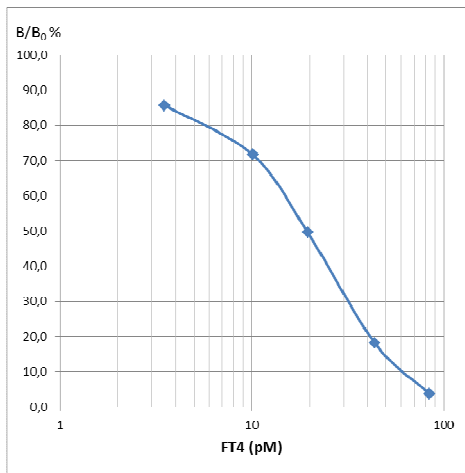


Figura 1.
Ejemplo de curva estándar
(No utilizar para calcular valores de las muestras!)

Características del ensayo

Sensibilidad

La sensibilidad analítica es de **0,6 pmol/L**. Este valor corresponde a la suma de la media y dos desviaciones estándar de 20 réplicas del calibrador cero (S1).

Los Límites del Blanco (LoB), de Detección (LoD) y de Cuantificación (LoQ) fueron determinados según la guía del CLSI, documento EP17.

LoB = 0,92 pmol/L

LoD = 1,28 pmol/L

Sensibilidad funcional = LoQ = **1,40 pmol/L**.

Especificidad

Se adicionaron T₃ y r-T₃ en diferentes concentraciones al calibrador 0 y se determinó la concentración aparente de FT₄.

T ₃ (nmol/L)	FT ₄ medido (pmol/L)	r-T ₃ (nmol/L)	FT ₄ medido (pmol/L)
10	< LoD	10	< LoD
100	1,7	100	< LoD
500	18	500	2
1000	36	1000	5

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 106 series independientes. Los valores obtenidos se muestran a continuación.

Intra-ensayo		
Muestra	Media (pmol/L)	CV%
1	1,4	9,0
2	4,2	7,2
3	12,6	2,0
4	18,7	1,4
5	31,6	1,4
6	50,7	0,7

Inter-ensayo		
Muestra	Media (pmol/L)	CV%
7	2,2	11,1
8	9,5	5,3
9	14,7	2,7
10	30,9	3,5
11	35,2	7,1
12	57,7	6,8

Valores de referencia

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia. Los valores presentados a continuación fueron determinados por duplicado en 392 donantes de sangre aparentemente saludables.

El rango de referencia recomendado es:

10,2 – 22,5 pmol/L.

Conversión de las unidades de medida

1 pmol/L = 0,0777 ng/dL

Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición de FT₄ 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.

3) Si el kit es procesado en un equipo automatizado de RIA, el tiempo de incubación puede ser reducido a 30 minutos.

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 30 mg de azida sódica.

Almacenamiento y expiración

Consérvese este producto a temperaturas entre 2°C y 8°C hasta la fecha de vencimiento indicada.

La fecha de vencimiento representa 67 días después de la fecha de disponibilidad del producto. Ver calendario de exportación en la página web.

	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: Octubre/2018