

T3 [I-125] RIA KIT

RK-609CT. Estuche para 100 determinaciones

Juego de reactivos para la determinación cuantitativa *in vitro* de la Triyodotironina (T_3) total en suero humano, en el rango de 0-12 nmol/L (0-780 ng/dl).

Introducción

La Triyodotironina (3,5,3'-triyodotironina, T_3) es la hormona tiroidea biológicamente más activa. Sólo un 20% se produce en la glándula tiroidea y el 80% mediante la deiodación de la Tiroxina (3,5,3',5'-tetrayodotironina, T_4) en los tejidos periféricos. Su masa molecular es de 651g.

En el torrente sanguíneo, la T_3 se encuentra mayormente (99,7%) unida a la globulina enlazadora de tiroxina (TBG) y a la albúmina. La hormona libre es responsable por la actividad biológica y juega un papel fundamental en el mantenimiento del estado eutiroideo (normal). Las variaciones en la concentración sanguínea de la hormona total pueden estar ligadas a cambios en las proteínas de transporte o en la producción hormonal tiroidea.

La determinación de T_3 total en sangre juega un papel fundamental en el pesquizaje de las enfermedades tiroideas. En el hipertiroidismo aumenta la concentración de T_3 , pero en el hipotiroidismo no siempre se miden concentraciones bajas de la hormona, por lo que es necesario determinar la Tiroxina.

Se pueden observar además concentraciones elevadas de T_3 durante el embarazo, debido al uso de anticonceptivos y a la terapia estrogénica. La deficiencia hepática, la nefrosis y la terapia androgénica pueden ocasionar concentraciones disminuidas de T_3 .

Principio del ensayo

Este ensayo está basado en una reacción competitiva entre la T_3 no marcada, presente en las muestras y calibradores, con una cantidad fija de T_3 marcada con ^{125}I por un número limitado de sitios de unión al anticuerpo anti- T_3 . La cantidad de T_3 marcada con ^{125}I que se une al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de T_3 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 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 T_3 , se prepara una curva estándar a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de T_3 presente en las muestras.

Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco con 22 mL, listo para usar, contiene < 260 kBq de T_3 marcada con ^{125}I en solución tampón con 0,1% NaN_3 , 0,1% Kathon-CG y colorante rojo.

2. CALIBRADORES (S0-S5), 6 frascos listos para usar con 1 mL de suero humano y 0,1% de NaN_3 y Kathon-CG. Los calibradores contienen: 0; 0,75; 1,5; 3; 6; 12 nmol/L de T_3 , respectivamente. Su concentración exacta está especificada en la etiqueta de cada frasco.

3. SUERO CONTROL, 2 frascos listos para usar, contienen 1 mL de suero humano con 0,1% NaN_3 y Kathon-CG. La concentración de los controles está especificada en el certificado de calidad incluido.

4. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 tubos de 12x75 mm, recubiertos con anticuerpo anti- T_3 policlonal de conejo, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar. El envase contiene una bolsa desecante de gel de sílice.

Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (50, 200 y 1000 μ L), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma

Materiales y equipos recomendados:

Pipetas de repetición (200 y 1000 μ L)

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. 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.

Una vez abierta la caja de tubos recubiertos, los tubos no usados deben guardarse en la bolsa plástica que se incluye con la bolsa de gel de sílice adentro, bien cerrada hasta el próximo uso.

PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente (mínimo 1 hora). 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 (S0-S5), controles (CI-CII) y muestras (M). Opcionalmente, marcar dos tubos no recubiertos para los totales (T).
- Añadir por duplicado 50 μ L de calibrador, controles y muestras en los tubos apropiados.

- Añadir 200 μ L de trazador en cada tubo.
- 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 y repetir el punto 6.
- Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma.
- Calcular la concentración de T_3 en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S0-S5	CI-CII	M
Calibrador		50		
Control			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 $B_0/T\%$ para el calibrador de concentración cero (S_0) según la ecuación siguiente:

$$B_0/T\% = \frac{S_0 \text{ (cpm)}}{T \text{ (cpm)}} \times 100$$

$B_0/T\%$ 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:

$$B/B_0(\%) = \frac{S_{1-5} / CI, CII / M_x \text{ (cpm)}}{S_0 \text{ (cpm)}} \times 100$$

Plotear los porcentajes B/B_0 (%) contra la concentración de T_3 de cada calibrador en un papel semi-logarítmico. Determinar la concentración de T_3 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.

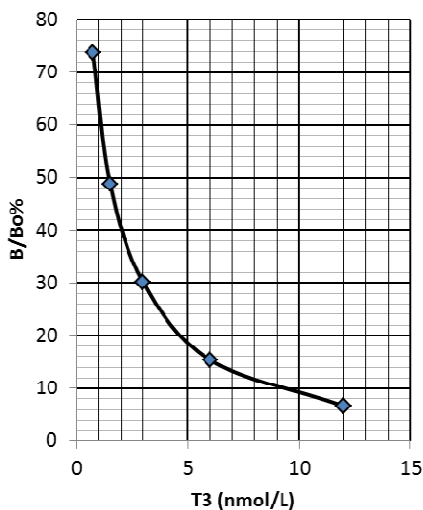


Figura 1.
Ejemplo de curva estándar

(No utilizar para calcular valores de las muestras!)

Tabla 2. Datos típicos del ensayo

Tubos	Media cpm	B ₀ /T%	B/B ₀ %
T	116 636		
S0	90 990	78,5	100,0
S1	67 039		73,7
S2	44 494		48,9
S3	27 353		30,1
S4	14 025		15,4
S5	6 124		6,7
CI	40 185		44,2
CII	21 314		23,4

Características del ensayo

Especificidad

La reacción cruzada con L-Tiroxina (T4) no es detectable.

Sensibilidad

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

LoB = 0,22 nmol/L.

LoD = 0,32 nmol/L, determinado con proporción de falsos positivos y falsos negativos menor que 5%, basado en 205 determinaciones, con 4 muestras blanco y 4 muestras de baja concentración.

LoQ = 0,37 nmol/L, determinado gráficamente a partir de la curva del perfil de precisión.

Precisión

La precisión intra-ensayo se determinó a partir de 20 réplicas de 4 muestras, medidas en una serie. Para determinar la precisión inter-ensayo se midieron por duplicado 5 muestras, en 38 series independientes. Los valores obtenidos se muestran a continuación.

Muestra	Media (nmol/L)	Intra-ensayo CV%
1	1,90	3,30
2	4,49	2,98
3	1,20	3,07
4	3,40	3,44

Muestra	Media (nmol/L)	Inter-ensayo CV%
5	0,67	8,6
6	1,16	6,3
7	2,13	4,5
8	3,91	4,1
9	7,20	4,1

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 IRMM-469 T₃ a 6 muestras de suero con concentraciones endógenas diferentes. La recuperación media obtenida fue de 76,8%.

Prueba de dilución (linealidad)

Se diluyeron serialmente 4 muestras con calibrador de concentración cero y se sometieron a ensayo. La recuperación media obtenida fue de 117%.

Valores de referencia

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia. Los valores presentados a continuación fueron determinados por duplicado en 298 donantes de sangre aparentemente saludables.

Rango de referencia: **1,25 – 3,03 nmol/L**

Conversión de las unidades de medida

1 nmol/L = 65 ng/dL

1 ng/dL = 0,0154 nmol/L

Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición de T₃ 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*.

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 y de Kathon-CG.

	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. P.f.: 851.

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

Edición: Febrero/2018