

T3

Análisis ELISA para la determinación cuantitativa de la triiodotironina total (T3) en suero o plasma humano

Presentación del estuche

[REF]	54010	96 determinaciones	Estuche completo
[IVD]			

Uso previsto

La triiodotironina (T3) es una hormona sintetizada y almacenada en la glándula tiroides. Más del 99% de T3 en la sangre está unida reversiblemente a proteínas plasmáticas. La concentración de T3 es mucho menor que la de T4, pero su potencia metabólica es mucho mayor. La determinación de T3 es una de las herramientas más importantes en el diagnóstico de la enfermedad tiroidea. Su determinación ha descubierto una variedad de hipertiroidismo donde los pacientes tirotóxicos presentan valores elevados de T3 con valores normales de T4 (T3-hipertiroidismo). Un aumento de T3 sin elevación de T4 es frecuentemente indicativo de tirotoxicosis recurrente en pacientes previamente tratados. El significado clínico de T3 es evidente en pacientes donde el eutiroidismo es atribuido a T3 normal con valores subnormales de T4. La determinación de T3 también es útil en el monitoreo tanto de pacientes bajo tratamiento para hipertiroidismo como de pacientes que han discontinuado la terapia antitiroidea. Es especialmente útil para diferenciar sujetos eutiroideos de sujetos hipertiroides. Adicionalmente al hipertiroidismo, los niveles de T3 se elevan en el embarazo, ingesta de anticonceptivos orales o tratamiento de estrógenos, paralelamente la TBG (globulina fijadora de tiroxina) se incrementa de manera análoga a la T4. De la misma manera, una disminución de TBG disminuye la concentración de T3. Sin embargo estos cambios del nivel de T3, no son reflejo fiel del estado tiroideo. La mejor información diagnóstica acerca de la tirostatitis en estas situaciones se puede obtener con la prueba de TRH.

Principio - EIA competitivo -

La prueba T3 ELISA de HUMAN es destinada al uso profesional. La prueba ELISA está basada en el principio de la unión competitiva entre la T3 de la muestra y el conjugado de T3-peroxidasa por un número limitado de sitios de unión en el pocillo recubierto de anti-T3 (oveja). Así la cantidad de conjugado de T3-peroxidasa que se une al pocillo es inversamente proporcional a la concentración de T3 en la muestra.

Tras la incubación de la muestra y del conjugado de T3-peroxidasa, el conjugado enzimático no ligado y en estado de equilibrio es removido por lavado. Se agrega TMB/solución de sustrato (etapa 2), y se forma un color azul. La intensidad de este color que cambia a amarillo después de parar la reacción, es inversamente proporcional a la cantidad de T3 en la muestra.

Reactivos y contenidos

[MIC]	12	Tiras de Micropocillos (en portatira) Tiras (desprendibles) de 8 pocillos, recubiertas de anti-T3 (oveja)	
[CAL]	A - F	Calibradores (tapa blanca) 6x2,0ml listo para usar, en suero humano Nivel de T3: 0 (A), 0,5 (B), 1,0 (C), 2,5 (D), 5,0 (E), y 7,5 (F) ng/ml	
[CON]	1,5 ml	Conjugado enzimático-antígeno (tapa blanca) T3 conjugado con HRP, coloreado amarillo en una matriz protéica estabilizada	1 %
[C-DIL]	13 ml	Buffer conjugado (tapa blanca) Buffer Tris NaCl, coloreado rojo	
[WS50x]	20 ml	Solución de lavado (tapa negra) Concentrado para aprox. 1000 ml Buffer Tris NaCl	250 mmol/l
[SUB]	14 ml	Reactivo sustrato (tapa amarilla, listo para usar) 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) Peróxido de hidrógeno Buffer acetato de sodio	< 0,25 g/l 0,03 mol/l
[STOP]	7,5 ml	Solución de parada (tapa roja) Acido sulfúrico	0,5 mol/l
	1	Tira adhesiva	

Agentes preservantes: Concentración total < 0,04%.

Notas de seguridad

No ingiera los reactivos. Evite el contacto con los ojos, piel y membranas mucosas. Todas las muestras de pacientes y [CAL] deberán ser manipulados como posibles agentes infecciosos. [CAL] han sido encontrado negativos para HBsAg y anticuerpos contra VHC y VIH 1 + 2 en los donantes. Use ropa protectora y guantes desechables según las buenas prácticas de laboratorio (GLP). Todos los materiales contaminados con muestras o [CAL] deben inactivarse por métodos aprobados (autoclavado o tratamiento químico) según las regulaciones aplicables.

Estabilidad

Los reactivos son estables hasta las fechas de caducidad en las etiquetas individuales cuando se almacenan a 2...8°C.

Después de abierto los reactivos deben almacenarse a 2...8°C y utilizarse dentro de 60 días (ver también "Nota").

[MIC]

- Están envasadas en bolsas de aluminio selladas con un desecante.
- Antes de abrir, las tiras deben estar a **temperatura ambiente**.
- No utilizadas: devuélvalas en el envase con cierre junto con el desecante. Las tiras almacenadas de esta manera a 2...8°C pueden ser usadas hasta la fecha de caducidad (ver también "Nota").
- No toque el borde superior o el fondo de los micropocillos con los dedos.

Preparación de reactivos

Todos los reactivos deben estar a **temperatura ambiente** (15...25°C) antes del uso.

Los reactivos que no están en uso deben siempre estar almacenados a 2...8°C.

Solución de trabajo de conjugado [WCON]

- Diluya [CON] 1+10 con [C-DIL]: p.ej. diluya 160 µl de [CON] con 1,6 ml de [C-DIL] para 16 pocillos.
- Estabilidad: **24 h a 2...8°C**

Solución de lavado de trabajo [WASH]

- Una ligera turbidez que puede aparecer en el concentrado de [WS50x] disolverá por completo en la dilución.
- Diluya [WS50x] al 1000 ml con agua desionizada fresca en un envase apropiado. Enjuague el envase varias veces.
- Estabilidad: hasta 60 días a 15...25°C.

Muestras

Suero o plasma (EDTA, heparina)

No use muestras altamente lipémicas o hemolíticas.

Las muestras pueden almacenarse por 5 días a 2...8°C o hasta 30 días a -20°C. **Congele y descongele solamente una vez.** Al descongelar, una muestra debe ser homogeneizada. Elimine el material particulado por centrifugación o filtración.

Procedimiento

Siga el procedimiento exactamente como se describe.

Notas de uso

- U1:** No mezcle o use componentes de diferentes números de lote. No mezcle tapas de envases (riesgo de contaminación). No use reactivos después de sus fechas de caducidad.
- U2:** No use reactivos que pueden ser contaminados o que tienen aspecto diferente o olen diferentemente que normal.
- U3:** Note el reparto de [CAL], de las muestras y de los controles cuidadosamente en la hoja provista en el estuche.
- U4:** Saque el número requerido de [MIC] y colóquelas firmemente en el portatiras.
- U5:** Analice [CAL], los controles y las muestras **en duplicado. Pipetéelos en el fondo** de los micropocillos.
- U6:** **Siempre deben agregarse los reactivos en el mismo orden y tiempo para minimizar diferencias en los tiempos de reacción entre los micropocillos.** Es importante para obtener resultados reproducibles. El pipeteo de las muestras no debe exceder de 10 minutos. De lo contrario pipetee la curva de calibración en las posiciones indicadas en la mitad del intervalo de la serie. Si se emplea más de 1 placa, repita la curva de calibración para cada placa.
- U7:** Evite/remueva burbujas de aire antes de las incubaciones y lecturas absorbancia.
- U8:** [SUB] inicia y [STOP] termina una reacción cinética. **Evite la luz intensa** cuando se desarrolla el color.

Procedimiento de lavado

El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente producirá una mala precisión o absorbancias falsamente elevadas.

L1: Remueva las tiras adhesivas, aspire el contenido, agregue [WASH], aspire después de un tiempo de remojo de 30 seg. y repita el lavado dos veces.

L2: En el caso de lavadores automáticos enjuague con [WASH] y lave los pocillos 3 veces. Asegúrese que el lavador llene los pocillos completamente y los aspire eficientemente después de 30 seg. (líquido remanente: < 15 µl).

L3: Después del lavado, remueva el líquido remanente invirtiendo los micropocillos sobre papel absorbente.

Esquema de pipeteo

Los reactivos y las muestras deben estar a temperatura ambiente antes del uso.		
Etapa 1		Pocillo [µl]
	A1...D2 Calibradores	E2... Muestras
[CAL] A-F; por duplicado	50	--
Muestras, Controles; por duplicado	--	50
[WCON]	100	100
Agite suavemente y cubra [MIC] de tira adhesiva		
Incube por 60 min a 20...25°C		
Lave 3 veces como se describe (ver L1 - L3)		
[WASH]	300	300
Etapa 2		
[SUB]	100	100
No agite [MIC] después de la adición de [SUB].		
Incube por 15 min a 20...25°C (ver U8)		
[STOP]	50	50
Mezcle cuidadosamente.		
Mida la absorbancia a 450 nm lo más pronto posible o dentro de 30 min. después de terminar la reacción usando una longitud de onda de referencia de 630-690 nm (si está disponible).		

La absorbancia de los calibradores y muestras se determina haciendo uso de un lector de micropocillos ELISA o sistemas completamente automatizados (p.ej. instrumentos de las líneas HumaReader o ELISYS de HUMAN). La concentración de las muestras es interpolada de acuerdo a la curva generada al utilizar los calibradores de suero de concentraciones anti-génicas conocidas.

Validación del análisis

Los resultados son válidos si se cumplen los siguientes criterios:

- La absorbancia media (DO) de [CAL] A ≥ 1,3.
- La diferencia entre los duplicados de [CAL] A no excede de un 10%.

Cálculo

Grafique las absorbancias medidas contra las concentraciones de [CAL] en papel milimetrado lineal. La interpolación apropiada de los puntos medidos graficados da lugar a una curva de calibración desde la cual puede determinarse la concentración del analito en la muestra.

Para calcular las concentraciones del analito, seleccione una opción apropiada y validada para el cálculo de la curva (recomendación: punto a punto).

Control de calidad

Según las buenas prácticas de laboratorio (GLP) deben analizarse controles con cada curva de calibración. Para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, debe efectuarse un número estadísticamente significativo de controles para establecer los valores medios y rangos aceptables. Las muestras de control de calidad deben analizarse según las regulaciones locales. Los resultados deben estar dentro de los rangos establecidos.

Interpretación de resultados

La concentración total de triiodotironina en suero es dependiente de varios factores: la función de la glándula tiroides y su regulación, concentración de TBG, y la unión de triiodotironina a TBG^{3,4}.

Por lo tanto, la concentración total de triiodotironina por si sola no es suficiente para evaluar el estado clínico del paciente.

Los valores de triiodotironina total en suero pueden elevarse en ciertas condiciones, como embarazo o toma de anticonceptivos orales. Una disminución en los valores de T3 se encuentra en enfermedades en las que el cuerpo consume demasiado proteínas, ciertas enfermedades del hígado y debido a la administración de hormonas y medicamentos³.

Valores esperados

Resultados de un estudio con sujetos eutiroideos:

Media (X)	1,36 ng/ml
Desviación estándar (D.S.)	0,33 ng/ml
Rango esperado (± 2 D.S.)	0,69 - 2,02 ng/ml

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores esperados utilizando la instrumentación, los métodos de colección de sangre y los técnicos de análisis que se emplean normalmente en dicho laboratorio ya que los niveles de T3 son influenciados por factores geográficos y dieta.

Características de la ejecución

La prueba T3 ELISA tiene una sensibilidad analítica de aproximadamente 0,05 ng/dl de T3.

Las muestras con concentraciones de T3 por encima de 7,5 ng/ml pueden diluirse con [CAL] A y reanalizarse. Para obtener la concentración de estas muestras, se multiplica el resultado por el factor de dilución.

Las características de la ejecución de esta prueba pueden consultarse en el informe de verificación, accesible vía

www.human.de/data/gb/vr/el-t3.pdf o

www.human-de.com/data/gb/vr/el-t3.pdf

Si no puede acceder a las características de la ejecución vía internet, póngase en contacto con su distribuidor local quien se las proporcionará sin costo alguno

Nota

Los componentes del estuche son estables hasta la fecha de caducidad aún después de abiertos. Sin embargo, la posibilidad de una contaminación está directamente relacionada con el número de tomas del reactivo. Por lo tanto, el límite de 60 días en viales abiertos se fijó por razones de seguridad.

La manipulación debería siempre estar de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (GLP*). ¡Los criterios de validación del análisis deben cumplirse siempre!

(*Esto incluye: Coloque la tapa debida en el frasco y ciérralo firmemente / Saque de los frascos de stock solamente los reactivos necesarios para la corrida si entraran en contacto con otras soluciones contaminantes como lo son las muestras, etc. / Las soluciones de stock siempre deben regresarse a 2...8°C si no se usan.)

Notas de seguridad

[STOP] ¡Atención!

• Indicaciones de peligro

H315 Provoca irritación cutánea.

H319 Provoca irritación ocular grave.

• Consejos de prudencia

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P321 Se necesita un tratamiento específico (ver en esta etiqueta).

P332+P313 En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.

P337+P313 Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

Literatura

1. Barker S.B., Journal Biological Chemistry **173**, 175 (1948)
2. Chopra I.J. et al., J. Clinical Endocrinol. **33**, 865 (1971)
3. Young D.S. et al., Clinical Chemistry **21**, 3660 (1975)
4. Sterling L., Cleveland CRC Press, p. 19 - 51 (1975)

EL-T3

INF 5401001 E

07-2015-24



Human Gesellschaft für Biochemia und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 · 65205 Wiesbaden · Germany
Telefon +49 6122-9988-0 · Telefax +49 6122-9988-100 · e-Mail human@human.de