

# PATHOZYME<sup>®</sup> TOTAL TRIIODOTHYRONINE Ref OD367

Immunoanálisis de enzima (EIA) para la detección del T3 en suero humano.

Almacene entre los 2°C y los 8°C. NO CONGEELE

Para uso In Vitro únicamente

## INTRODUCCIÓN

La Triiodothyronine (3, 5, 3'-triiodo-L-thyronine, T3) y la Thyroxine (T4) son dos hormonas activas encontradas en el torrente sanguíneo. Aproximadamente el 20% del T3 circulante se deriva de la síntesis directa y de la secreción de la glándula tiroidea mientras que el 80% es producido por la deiodinación del T4 en los tejidos periféricos. El T3 es transportado a través del torrente sanguíneo periférico primariamente ligado a las proteínas del suero, específicamente a la Globulina Tiroxina de Ligado (TBG) Pre albúmina tiroidea de ligar (TBPA) y la albúmina. Solo como un 3% del suero T3 total, está desligado y libre de difundirse a los tejidos para ejercer sus efectos biológicos. El T3 tiene una influencia primaria en la tasa del consumo de oxígeno y de la producción de calor en casi todos los tejidos. La hormona también tiene un papel crítico en el crecimiento, desarrollo y maduración sexual de los mamíferos en crecimiento.

El total de suero T3 es uno de los parámetros usados en la diferenciación del diagnóstico clínico de la enfermedad de la tiroides en particular el hipertiroidismo, sin embargo, tiene concentraciones de T3 elevadas acompañadas por concentraciones normales de T4 el cual es conocido como Tirotoxicosis T3. Tales condiciones clínicas hacen vital el establecer que los niveles de T3 sean normales antes de descartar el diagnóstico de hipertiroidismo. Los niveles de suero T3 son también un excelente indicador de la habilidad de la tiroides de responder a las pruebas de estimulación y supresión.

El PATHOZYME T3 es un inmunoensayo de enzima que proporciona un rápido y sensible método para medir el T3 en suero extraído usando anticuerpo T3 y enzima etiquetada T3 conjugado.

## USO PREVISTO

El PATHOZYME T3 es un inmunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa de la triiodothyronine (T3) en suero humano y es para uso profesional únicamente.

## EL PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Se cubren los pozos de microtitulación con el anticuerpo de cabra anti-ratón IgG. Luego se aplica el suero de prueba junto con el reactivo del anticuerpo. Se añade la enzima conjugada T3 el cual compete con el suero T3 buscando sitios de ligado disponibles en la fase sólida. Después de la incubación, se lavan los pozos para retirar cualquier T3 y enzima conjugada T3. Al añadir el sustrato (TMB) se desarrollará un color pero únicamente el pozos en los cuales está presente la enzima indicando con esto, la falta de suero T3. Se detiene enseguida la reacción añadiendo ácido clorhídrico diluido para proceder de inmediato a leer la absorción a 450 nm. Esta prueba ha sido calibrada con los estándares de la casa y no existe un estándar internacional para este análisis.

## CONTENIDO

Ref  
OD367



<b>Microtitre Plate</b>	<b>12 x 8 pozos x 1</b>	
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico dentro de una bolsa de hojilla de aluminio con desecante.		
<b>Cal A</b>	<b>0 ng/ml</b>	<b>1ml</b>
Referencia estándar: Suero humano libre de T3. Listo para su uso (Incoloro).		
<b>Cal B</b>	<b>0.75ng/ml</b>	<b>1ml</b>
Referencia estándar: T3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).		
<b>Cal C</b>	<b>1.5ng/ml</b>	<b>1ml</b>
Referencia estándar: T3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).		
<b>Cal D</b>	<b>3.0ng/ml</b>	<b>1ml</b>
Referencia estándar: T3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).		
<b>Cal E</b>	<b>6.0ng/ml</b>	<b>1ml</b>
Referencia estándar: T3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).		
<b>Cal F</b>	<b>10 ng/ml</b>	<b>1ml</b>
Referencia estándar: T3 diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).		
<b>Washbuf</b>	<b>20 X</b>	<b>50ml</b>
Buffer de lavado concentrado: Buffer basado en Tris con detergentes (Incoloro).		
<b>Ab</b>	<b>REAG</b>	<b>7ml</b>
Anticuerpo de ratón Anti-T3. Listo para su uso (Rosado).		
<b>Conj</b>	<b>11 X</b>	<b>1.3 ml</b>
Conjugado concentrado T3 HRP: T3 conjugado a peroxidasa de rábano (Incoloro).		
<b>DIL</b>	<b>Conj</b>	<b>12 ml</b>
Diluyente conjugado: Buffer basado en fosfato con proteínas estabilizadora en fuerza de trabajo (Verde).		
<b>Subs</b>	<b>TMB</b>	<b>11 ml</b>
Solución de sustrato: 3,3', 5,5' Tetrametil bencidina en buffer de citrato. Listo para su uso. (Incoloro)		
<b>Soln</b>	<b>Stop HCl</b>	<b>11ml</b>
Solución de paro: Ácido Clorhídrico disuelto en agua purificada. Listo para su uso (Incoloro).		
		<b>1 + 1</b>
Hojilla de instrucciones y hoja de registro de datos EIA		

## MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

Micropipetas 100µl 200µl y 1000µl  
Puntas de pipeta desechables  
Papel absorbente  
Lector de micro placa con filtro de 450nm.  
Papel gráfico  
Cristalería de laboratorio totalmente limpia.

## PRECAUCIONES

El PATHOZYME T3 contiene materiales de origen humano los cuales han sido examinados y confirmados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV I y II y para el HBsAg usando procedimientos de examen aprobados por la FDA a nivel de donante sencillo. Ya que ninguna prueba puede ofrecer una seguridad total de que los productos derivados de fuente humana no puedan transmitir agentes infecciosos, se recomienda que los reactivos de este kit sean manejados con cuidado extremo y atención durante su uso y disposición. No los ingiera.

Los reactivos del PATHOZYME T3 no contienen sustancias peligrosas según lo definen las regulaciones químicas británicas (Información de peligro y empaque para el suministro). Sin embargo, todos los reactivos deben tratarse como potencialmente bio peligrosos tanto en su uso como en su disposición. La eliminación final debe estar en concordancia con la legislación local.

La solución de paro del PATHOZYME T3 es ácido clorhídrico diluido, por consiguiente, es altamente corrosivo. Manéjelo con cuidado. En caso de contacto, lave totalmente con agua abundante.

El PATHOZYME T3 contienen un 1% de Proclin 300\* como preservativo el cual puede ser tóxico si se ingiere. En caso de contacto, lave totalmente con agua corriente y busque atención médica.

\*Proclin® 300 es una marca registrada de ROHM & HAAS Limited.

## ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro de un rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C.

La fecha de vencimiento es el último día del mes y se encuentra marcado en la botella y en la etiqueta del kit. El kit se desempeñará según las especificaciones escritas hasta la fecha de vencimiento determinada, la cual es tomada teniendo en cuenta la fecha de fabricación del producto. No use los reactivos pasada la fecha de vencimiento.

Debe evitarse la exposición de los reactivos a temperaturas extremas ni a luz solar directa.

NO CONGEELE LOS REACTIVOS ya que esto los hará completamente inusables.

## ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro de un rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C.

No use suero lipémico ni hemolizado ni contaminado para la prueba ya que estas circunstancias afectaran adversamente los resultados.

El suero puede almacenarse entre los 2°C y los 8°C hasta por 48 horas antes de efectuar la prueba. Si se requiere un almacenamiento más prolongado, almacene a -20° hasta por 1 año. Las muestras derretidas, deben mezclarse completamente antes de efectuar las pruebas.

No use como preservativa la Asida de Sodio ya que este producto podrá inhibir el sistema de enzima de peroxidasa.

No haga ciclos de congelar-descongelar repetitivos pues esto causará resultados falsos.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos deben llegar a temperatura ambiente (20° a 25°C) deben mezclarse totalmente antes de usarlos. No induzca la formación de espuma.

### Conjugado:

Diluya el conjugado concentrado usando 1 parte de conjugado concentrado por 10 partes de diluyente de conjugado. Por ejemplo: añada 0.1 ml de conjugado concentrado a 1.0 ml de diluyente de conjugado. Esta operación hay que hacerla 20 minutos antes de iniciar el análisis. Asegúrese que el conjugado diluido está a temperatura ambiente. No induzca la formación de espuma. Use dentro de las 24 horas siguientes.

### Buffer de lavado:

Diluya la concentración de buffer de lavado usando una parte de concentrado de buffer de lavado con 19 partes de agua destilada. Por cada tira rompible de 8 pozos, prepare 25 ml de buffer de lavado diluido añadiendo 1.25ml de buffer de lavado concentrado a 23.75ml de agua destilada. Prepare solución fresca de buffer de lavado antes de cada tiraje de análisis. Se suministra buffer de lavado adicional para permitir el inicio de la máquina automática de lavado.

El procedimiento de lavado es crítico para el resultado del análisis. Un lavado insuficiente dará como resultado poca precisión y lecturas de absorción falsamente elevadas.

## LIMITACIONES DE USO

No se han validado para esta prueba el uso de muestras diferentes a suero. No existe un protocolo de re utilización para este producto. Al efectuar una interpretación de la prueba se recomienda con vehemencia tener en cuenta todos los datos clínicos. No se debe hacer un diagnóstico basado únicamente en los resultados de un solo análisis clínico.

## PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

- Permita que los componentes del kit y el suero de prueba lleguen a temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de efectuar las pruebas.
- Debe correrse solo un juego de estándares para cada grupo de suero de prueba. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el recipiente. Registre la posición de los estándares y el suero de prueba en la hoja de registro de datos suministrada.
- Las tiras no usadas deben introducirse en la bolsa de hojilla de aluminio con desecante y sellarse con la cremallera zip-lock antes de colocarse dentro de la temperatura de 2°C a 8°C.
- Distribuya 50µl de suero de prueba y estándares a los pozos designados y mezcle suavemente por 30 segundos.
- Distribuya 50 µl de Buffer zero a cada pozo.
- Mezcle totalmente por 30 segundos. Es muy importante tener una mezcla completa en este paso.
- Distribuya 100µl de conjugado a fuerza de trabajo a cada pozo. Mezcle completamente por 30 segundos.
- Incube la placa por 30 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Al terminar el periodo de incubación, elimine el contenido de los pozos sacudiéndolos hacia un contenedor bio peligroso. Enseguida golpee firmemente los pozos contra papel absorbente. Asegure un contenido adecuado de desinfectante presente en el contenedor bio peligroso.
- Lavado a mano: Llene los pozos con un mínimo de 300 µl de agua destilada por pozo. Sacuda el contenido de la placa hacia un contenedor bio peligroso. Luego golpee firmemente los pozos contra papel absorbente. Lave los pozos vacíos 5 veces.
- Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar todo residuo de agua en gotitas.
- Lavado a máquina: Asegúrese de distribuir 300 µl de buffer de lavado por cada pozo y que se añada un desinfectante apropiado en la botella de recolección de desperdicio. Lave los pozos vacíos 5 veces. Después del lavado, retire el exceso de líquido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar toda agua residual en gotitas.
- Distribuya 100µl de la solución de sustrato a cada pozo y mezcle suavemente por 5 segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Detenga la reacción añadiendo 100µl de solución de paro a cada pozo.
- Mezcle suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia a color amarillo.
- Lea la densidad óptica de forma inmediata y no más tarde de 10 minutos usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

## SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Para ser usado por operarios con un entrenamiento mínimo de laboratorio.

No use componentes kit dañados ni contaminados

Use una punta desechable por cada muestra para evitar contaminación cruzada.

Aunque no es indispensable, recomendamos duplicar todos los estándares y especímenes.

Deben correrse al mismo tiempo los especímenes y los estándares para mantener las condiciones de prueba iguales.

Se recomienda no usar más de 32 pozos en cada análisis si se usa un pipeteo manual ya que el pipeteo de todos los estándares y especímenes debe completarse dentro de 3 minutos. Una placa completa de 96 pozos puede usarse si se usa un pipeteo automático

Tape todos los reactivos inmediatamente después de usarse.

Evite el pipeteo repetido de los agentes almacenados ya que esto puede causar contaminación.

No mezcle los reactivos ni las tiras cubiertas de anticuerpo tomadas de diferentes kits. Al eliminarse, hay que tener mucho cuidado de no tocar la superficie del pozo.

No permita que el reactivo se escurra a los lados del pozo. Antes de empezar el análisis permita que todos los reactivos lleguen a la temperatura ambiente que oscile entre los 20°C y los 25°C. Agite suavemente los reactivos ya sea invirtiéndolos con suavidad o por giro.

Una vez que el análisis se iniciado, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

No contamine la solución de sustrato ya que esto inutilizaría todo el kit.

Revise la precisión y exactitud del equipo de laboratorio usado durante el procedimiento para asegurar resultados reproducibles.

Las tiras no usadas deben reintroducirse en la bolsa resellable de hojilla de aluminio con desecante y sellarse usando la cremallera zip-lock y almacenarse a 2°C a 8°C.

## EL CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de la absorción media (A450) por cada juego de estándares y especímenes. Construya una curva estándar dibujando en un papel gráfico la absorción media de cada estándar contra su concentración en ng/ml. con los valores de absorción en el eje y las concentraciones en el eje X. Use los valores medios de absorción de cada espécimen para poder determinar la correspondiente concentración de T4 en ng/ml tomados de la curva estándar. Si los niveles de los calibradores o de las muestras de usuarios conocidos no arrojan los resultados esperados, éstos deben considerarse no válidos. Si usa un paquete de software, escoja un polígono con datos en extrapolación.

## VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

La gráfica producida por los calibradores deberá ser de forma hiperbólica con el OD450 de los calibradores y proporcional a su concentración. El OD del calibrador A deberá ser mayor que 1.5 y el OD del calibrador F deberá ser menor que 0.75 para que los resultados del análisis sean válidos. Basados en muestras clínicas de laboratorio de pacientes externos elegidos al azar, el rango normal de T3 es de 0.8-1.9ng/ml. La concentración mínima detectable del T3 por PATHOZYME T3 se estima ser de 0.2ng/ml.

## DATOS EVALUATIVOS

Calibrado contra los más importantes competidores y contra los estándares de la casa. El coeficiente de variación del PATHOZYME T3 es menor o igual al 10%.

En una evaluación hecha entre el kit Omega Pathozyme Total T3 y el kit Abbott AxSym Total T3 en muestras con niveles entre los 0.32 y los 5.9 ng/ml, se generaron los siguientes datos.

Número de muestras	67
Coefficiente de correlación	0.906
Pendiente	0.920
Interceptación	- 0.229
Medio Omega	1.24 ng/ml
Medio BioRad	0.91 ng/ml

En una evaluación hecha entre el kit Omega Pathozyme Total T3 y el kit Monobind Total T3 en muestras con niveles entre los 0.14 y los 6.2 ng/ml, se generaron los siguientes datos.

Número de muestras	80
Coefficiente de correlación	0.993
Pendiente	1.004
Interceptación	- 0.084
Medio Omega	1.21 ng/ml
Medio Monobind	1.13 ng/ml

En ambos estudios, los kits arrojan buena correlación.

## REFERENCIAS

- (1) Walker, W. H. O. Introduction: An approach to Immunoassay. *Clin. Chem.* 1977;23:384.
- (2) Kirkegaard, C., Friis, T. and Siersback-Nielsen, K. *Acta Endocrinol.* 1974;77:71.
- (3) Wisdom, G. B. Enzyme-Immunoassay. *Clin. Chem.* 1976;22:1243.
- (4) Hoffenberg, R. *Medicine.* 1978;8:392.
- (5) Liebllich, J., Utiger, R. D. J. *Clin. Invest.* 1972;51:1939.
- (6) Larson, P. R. Triiodothyronine: Review of Recent Studies of its Physiology and Pathophysiology in Man. *Metabolism.* 21,1073-1092(1972).

## GUIA RAPIDA DEL PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Distribuya 50µl del suero de prueba, los controles o los estándares.
- Distribuya 50µl del reactivo del anticuerpo a cada pozo y mezcle bien por 30 segundos.
- Distribuya 100µl de conjugado en fuerza de trabajo a cada pozo y mezcle totalmente por 30 segundos.
- Incube por 60 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Elimine el contenido de los pozos y lave 5 veces con buffer de lavado.
- Añada 100µl de solución de sustrato a cada pozo. Agite suavemente por 5 segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Añada 100µl de solución de paro a cada pozo y agite suavemente por 30 segundos.
- Lea las densidades ópticas de forma inmediata y no más tarde de 10 minutos usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

8086 ISSUE 8 Revised October 2005 SPANISH  
©Omega Diagnostics Ltd., 2005



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.  
Omega House, Hillfoots Business Village  
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom  
odi@omegadiagnostics.co.uk  
www.omegadiagnostics.com  
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY