

PATHOZYME® TOTAL THYROXINE (T4) ^{Ref} OD377

Immunoanálisis de enzima (EIA) para la detección de

la Tiroxina T4 en suero humano.

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

Para uso In Vitro únicamente.

INTRODUCCIÓN

El T4 o el Tiroxina (3, 5, 3'5'-tetraiodotironina) es la hormona de la tiroides más comúnmente medida para el diagnóstico de la función tiroidea. Se sintetiza en los folículos de la glándula tiroides y tiene su influencia primaria en el consumo de oxígeno y la producción de calor en prácticamente todos los tejidos. Es también importante para el desarrollo del crecimiento y para la maduración sexual de los mamíferos en crecimiento. Mas allá que el 99.9% del T4 transportado a través del torrente sanguíneo está ligado a las proteínas de plasma. La proteína de ligado mas grande es la Globulina Tiroxina de ligado (TBG) y las proteínas de ligar secundarias son la Albúmina tiroxina de ligado y la pre albúmina.

EL hipotiroidismo primario da como resultado una disminución de la producción de la T4 por la glándula tiroides y consecuentemente una concentración de T4 anormalmente baja en la sangre. El hipotiroidismo primario conduce a una excesiva producción tiroidea del T4 dando como resultado concentraciones elevadas del T4 en la sangre.

El análisis del PATHOZYME T4 proporciona un método rápido y sensible para medir el T4 en el suero humano usando anticuerpo monoclonal T4 altamente específico y una solución conjugada de enzima etiquetada T4.

USO PREVISTO

El PATHOZYME T4 es un immunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa de la tiroxina en suero humano. Es para uso profesional únicamente.

EL PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Se cubren los pozos de microtitulación con anticuerpos específicos anti-T4. Luego se aplica el suero de prueba. Se añade el T4 con la enzima conjugada de peroxidasa de rábano el cual compete con el suero T4 para encontrar lugares de ligado en la fase sólida. Después de la incubación, se lavan los pozos con agua para retirar cualquier T4 o enzima T4 no ligados. Al añadir el sustrato (TMB) se desarrollará un color pero únicamente en los pozos en los cuales está presente la enzima indicando con esto la falta de suero T4. Se detiene luego la reacción añadiendo ácido clorhídrico diluido para proceder a medir la absorción a 450nm. Esta prueba ha sido calibrada con los estándares de la casa y no existe estándar internacional para la misma.

CONTENIDO

^{Ref}
OD377



Microtitre Plate	12 x 8 pozos x 1
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico dentro de una bolsa resellable de hojilla de aluminio con desecante.	
Cal A 0 ng/ml	1 ml
Estándar de referencia: Suero humano libre de T4. Listo para su uso. (Incoloro)	
Cal B 20 ng/ml	1ml
Estándar de referencia: T4 diluido en suero humano y listo para su uso. (Incoloro).	
Cal C 50 ng/ml	1ml
Estándar de referencia: T4 diluido en suero humano y listo para su uso. (Incoloro).	
Cal D 100 ng/ml	1ml
Estándar de referencia: T4 diluido en suero humano y listo para su uso. (Incoloro).	
Cal E 150ng/ml	1ml
Estándar de referencia: T4 diluido en suero humano y listo para su uso. (Incoloro).	
Cal F 250 ng/ml	1ml
Estándar de referencia: T4 diluido en suero humano y listo para su uso. (Incoloro).	
Washbuf 20X	50ml
Buffer de lavado concentrado: Buffer basado en Tris con detergentes. (Incoloro).	
Conj 11X	1.3ml
Conjugado concentrado T4 HRP: T4 conjugado a Peroxidasa de rábano. (Incoloro).	
DIL Conj	12ml
Diluyente de conjugado. Buffer basado en fosfato con proteínas estabilizadoras. a fuerza de trabajo (Verde).	
Subs TMB	11ml
Solución de sustrato: 3,3', 5,5' Tetrametil bencidina en buffer de citrato. Listo para su uso (Incoloro).	
Soln Stop HCl 1M	11ml
Solución de paro: Ácido clorhídrico diluido en agua purificada. Listo para su uso (Incoloro)	
Hojilla de Instrucciones y hoja de registro de datos EIA	1 + 1

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 T4 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 T4 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 T4 es ácido clorhídrico diluido, por consiguiente, es altamente corrosivo. Manéjelo con cuidado. En caso de contacto, lave totalmente con agua abundante.

El PATHOZYME T4 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 del kit es el último día del mes indicado en la botella y en la etiqueta del kit, Este funcionará según las especificaciones hasta la fecha de vencimiento según se determina por la fecha de fabricación del producto la cual está indicada claramente en el kit y en sus componentes. No use los reactivos después de la fecha de vencimiento.

Evite la exposición de los reactivos a temperaturas extremas y no los exponga a la luz solar directa.

NO CONGELE LOS REACTIVOS ya que esto los hará completamente inservibles.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPECIMEN

Obtenga una muestra de sangre venosa del paciente y permita que se forme un coágulo y que se retraiga. Centrifugue la muestra de sangre coagulada y recolecte el suero claro. Se requieren muestras de suero frescas

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.

Prepare solamente suficiente solución de conjugado en fuerza de trabajo para desempeñar los análisis requeridos para el día. Por ejemplo, 2 tiras de 8 pozos requerirán 160µl de conjugado concentrado diluido en 1.6 ml de diluyente de conjugado.

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 reutilización 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.

Se ha reportado que los niveles de T4 están influenciados por las siguientes condiciones y tratamientos: niveles altos de TSH, embarazo, terapia estrógeno, anticonceptivos orales, heparina y propanolol fenitoína.

ASSAY PROCEDURE

- 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 25µl de suero de prueba y estándares a los pozos designados.
- Distribuya 100 µl de conjugado en fuerza de trabajo a cada pozo.
- Mezcle totalmente por 30 segundos. Es muy importante tener una mezcla completa en este paso.
- Incube la placa por 60 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 inició, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

No contamine la solución de sustrato ya que esto inutilizará 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 re introducirse 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 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 acomodación de curva de 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. El PATHZYME T4 se desempeñó en un estudio de 200 pacientes eutiroideos en una locación geográfica y dio como resultado un rango normal de 50 a 130 ng/ml. Este rango corresponde a los sugeridos por otros fabricantes comerciales. Se recomienda a los laboratorios ajustar los valores para que reflejen las diferencias específicas geográficas y de población según los pacientes que atiendan. La concentración mínima detectable de la tiroxina por el PATHZYME T4 se estima ser de 4 ng/ml.

DATOS EVALUATIVOS

Calibrado con los competidores más importantes y con los estándares de la casa. El coeficiente de variación del PATHZYME T4 es menor o igual al 10%.

En una evaluación hecha entre el kit Omega Pathozyme Total T4 y el kit Abbott AxSym Total T4 en muestras con niveles entre los 13 y los 245 ng/ml, se generaron los siguientes datos.

Número de muestras	82
Coefficiente de correlación	0.954
Pendiente	0.914
Interceptación	1.049
Medio Omega	99 pg/ml
Medio Abbott	101 pg/ml

Estos kits mostraron una excelente correlación.

REFERENCIAS

- (1) Skelley, D., Brown, L., and Besch, P. Radioimmunoassay. Clin. Chem. 19:146;1973.
- (2) Wistom, G. B. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22:1243;1976.
- (3) Schall, R.F., Fraser, A.S., Hansen H.W., Kern, C.W. and Tenoso, H.J. Clin. Chem. Vol. 24, No. 10, pages 1801-1804, 1978
- (4) Larsen, P.R., Ingbar, S.H.; William's Text Book of Endocrinology, Wilson JD and Foster eds., Philadelphia, Sanders Company, 1992, Section 3, Thyroid, Chapter 8, The Thyroid Gland, P. 358-487
- (5) Robbins, J. Radioassay and Thyroid Gland. Metabolism. 22:1021;1973.

REFERENCIA RÁPIDA DEL PROCEDIMIENTO DE PRUEBA.

- Distribuya 25µl de suero de prueba o estándares a 100 µl 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 100 µl 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 100 µl de solución de paro a cada pozo y agite suavemente por 30 segundos.
- Lea las densidades ópticas de forma inmediata, no más tarde de 10 minutos, usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

8087 ISSUE 8A Reviewed July 2015 SPANISH
© Omega Diagnostics Ltd., 2015

