



DiaMetra



FT3

para análisis de rutina

Determinación inmunoenzimática directa de FT3 en suero o plasma humano.

IVD



LOT
Ver la etiqueta externa

2°C 8°C



Σ = 96 ensayos

REF DKO037

USO PREVISTO

Método competitivo inmunoenzimático colorimétrico para la determinación cuantitativa de la concentración de FT3 en suero o plasma humano.

1. SIGNIFICADO CLÍNICO

La hormona tiroidea, triyodotironina (T3), es producida por la glándula tiroides. El yodo es un componente importante en la síntesis. La tiroxina se convierte en T3 activa (tres-cuatro veces más potente que la T4) dentro de las células por las deiodinasas (5'-iodinasas).

La globulina que transporta la tiroxina (TGB) es la principal proteína transportadora de la hormona tiroidea circulante.

Solo una fracción muy pequeña de la hormona circulante está libre, el 0,3% (no unida); esta fracción es biológicamente activa. Por lo tanto, la medición de la concentración libre de triyodotironina está relacionada con la condición clínica, en lugar de los niveles totales de triyodotironina. Por ejemplo, el aumento de los niveles totales de T3 está asociado con el embarazo, los anticonceptivos orales y la terapia con estrógenos, lo que da lugar a niveles elevados de T3 total, mientras que la concentración libre de T3 se mantiene sin cambios.

Las concentraciones de las proteínas transportadoras se alteran en muchos casos, como por ejemplo el embarazo. Cuando la función tiroidea es normal, la alteración de las concentraciones de proteínas transportadoras varía la concentración total de T3, mientras que la fracción libre permanece constante.

El enlace de T3 juega un papel clave en el control de la retroalimentación de la tiroides; la T3 libre (FT3) actúa en la hipófisis para inhibir la secreción de la hormona tiroidea.

Las hormonas tiroideas actúan en el organismo para aumentar el metabolismo basal, afectan a la síntesis de proteínas y aumentan la sensibilidad del cuerpo a las catecolaminas (como la adrenalina). Las hormonas tiroideas son esenciales para el desarrollo y la diferenciación de las células del cuerpo humano. Estas hormonas también regulan el metabolismo de las proteínas, de las grasas y de los hidratos de carbono, y están involucradas en la regulación del uso de los residuos energéticos por parte de las células. Los estímulos fisiológicos y patológicos influyen en la síntesis de la hormona tiroidea.

Un exceso de T3 circulante causa el síndrome clínico de tirotoxicosis o hipertiroidismo.

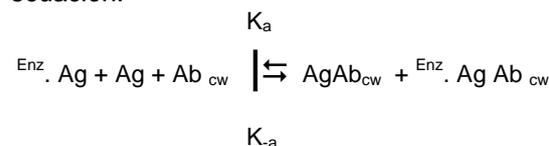
Tanto T3 como T4 se usan en la terapia para hipotiroidismo.

Algunas condiciones, como el embarazo, la terapia con estrógenos y otros factores que no dependen de la tiroides, alteran las concentraciones de TBG. La medición de los niveles de FT3 llevaría a un diagnóstico erróneo, ya que los niveles de FT3 no se ven afectados por los cambios de la TGB.

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método inmunoenzimático competitivo para la determinación de FT3. El conjugado enzima-T3 no debe tener enlaces medibles con las proteínas del suero, especialmente TBG y albúmina. El siguiente método tiene estas características. Después de la adición del antisuero inmovilizado, el conjugado enzima-T3 y el suero que contiene el antígeno FT3 nativo, hay una reacción competitiva entre el FT3 nativo y el conjugado enzima-T3 para un número limitado de sitios de enlace inmovilizados.

La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:



Ab_{cw}: Anticuerpo monoespecífico inmovilizado (cantidad constante)

Ag: Antígeno nativo (cantidad variable)

Enz. Ag.: Conjugado enzima-antígeno (cantidad constante)

Ag Ab_{cw}: Complejo antígeno-anticuerpo

Enz Ag Ab_{cw}: Complejo enzima-antígeno anticuerpo-conjugado

K_a: Constante de asociación

K_a: Constante de disociación

K = k_a / k_a: Constante de equilibrio

Tras lograr el equilibrio, el conjugado unido a la fase sólida se separa de la fracción de conjugado libre mediante decantación o aspiración. La actividad del conjugado unido a la fase sólida es inversamente proporcional a la concentración del antígeno libre (FT3). Utilizando los ESTÁNDARES con una concentración conocida de antígeno se puede crear

una curva en la que es posible interpolar una muestra con concentración desconocida de FT3.

3. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

3.1. Reactivos y materiales suministrados en el kit

1. Estándares (STD) de FT3 (6 frascos, 1 mL cada uno)

STD ₀	REF DCE002/3706-0
STD ₁	REF DCE002/3707-0
STD ₂	REF DCE002/3708-0
STD ₃	REF DCE002/3709-0
STD ₄	REF DCE002/3710-0
STD ₅	REF DCE002/3711-0

2. Conjugado (1 frasco, 12 mL)
FT3 conjugada con peroxidasa de rabano (HRP)

REF DCE002/3702-0

3. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible)
Anti-FT3 absorbido en la microplaca

REF DCE002/3703-0

4. Substrato TMB (1 frasco, 12 mL)
H₂O₂-TMB (0,26 g/L) (evitar el contacto con la piel)

REF DCE004-0

5. Solución de parada (1 frasco, 12 mL)
Ácido sulfúrico 0,15 mol/L (evitar el contacto con la piel)

REF DCE005-0

6. Solución de lavado conc. 50X (1 frasco, 20 mL)
NaCl 45 g/L; Tween-20 55 g/L

REF DCE006-0

3.2. Reactivos necesarios no suministrados en el kit

Agua destilada.

3.3. Material e instrumentación auxiliares

Dispensadores automáticos.

Lector de microplacas (450 nm)

Nota

Conservar todos los reactivos a 2±8 °C, protegidos de la luz.

Abrir la bolsa del reactivo 3 (microplaca recubierta) solo cuando se encuentre a temperatura ambiente y cerrarla inmediatamente después de extraer las tiras que se vayan a utilizar.

4. PRECAUCIONES

- Los componentes del kit deben conservarse a 2±8 °C; no usar reactivos después de la fecha de caducidad.
- Los reactivos abiertos, conservados a 2±8 °C, se mantienen estables durante 60 días.
- Evitar la exposición del reactivo TMB/H₂O₂ a la luz directa del sol, metales u oxidantes.
- Todos los productos que contienen suero humano han resultado negativos en la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B, los anticuerpos anti VIH 1 y 2, y de VHC. Puesto que no se conoce ningún ensayo que ofrezca una seguridad absoluta de la ausencia de agentes infecciosos, todos los productos de derivación

humana deben manipularse como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir agentes infecciosos.

- Diversos fármacos pueden afectar al enlace entre triyodotironina y proteínas vectoras, o al metabolismo de la T3, lo que complica la interpretación de los resultados de T3 libre.

- Los autoanticuerpos circulantes contra la T3 e inhibidores fijadores de hormonas pueden interferir.

Se ha indicado en la literatura que la heparina tiene efectos in vivo e in vitro en la concentración de FT3. Por lo tanto, no se han realizado pruebas con muestras que contengan este anticoagulante.

- En diversas enfermedades no tiroideas (NTI), la evaluación del estado tiroideo es muy difícil. Se recomienda la medición de la TSH para identificar disfunciones tiroideas.
- Los casos de disalbuminemia familiar pueden llevar a resultados erróneos en la determinación directa de la dosificación de FT3.
- No usar para la detección en neonatos

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de los estándares (S₀, S₁, S₂, S₃, S₄, S₅)

Los estándares son referencias de suero humano de triyodotironina libre con concentraciones aproximadas de:

	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
pg/mL	0	0,4	1,2	4,5	8,0	18,0

Conservar a 2±8 °C.

Los niveles exactos se indican en las etiquetas para cada lote específico.

Para unidades del S.I.: 1 pg/mL x 1,536 = pmol/L

5.2. Preparación de la solución de lavado

Antes del uso, diluir el contenido de cada ampolla de solución de lavado tamponada concentrada (50x) con agua destilada hasta un volumen de 1000 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 1:50. La solución de lavado diluida se mantiene estable a 2±8 °C durante al menos 30 días.

5.3. Preparación de la muestra

Obtener la muestra mediante una jeringa de 10 mL en tubos de silicona. Observar las precauciones habituales en la obtención de las muestras. Separar las células de glóbulos rojos mediante centrifugado y usar el suero para la determinación de la FT3. Las muestras pueden conservarse a una temperatura de 2±8°C (durante un período máximo de 48 horas). Si no se va a comprobar en un plazo de 48 horas, puede conservarse a -20°C hasta 30 días. Si el ensayo se realiza por duplicado, se requieren 0,10 mL de la muestra.

5.4. Procedimiento

Antes de proceder a la determinación, esperar a que todos los reactivos, sueros de referencia y controles se encuentren a temperatura ambiente (22±28°C).

Reactivo	Estándar	Muestra	Blanco
Estándares S0-S5	50 µL		
Muestra		50 µL	
Conjugado	100 µL	100 µL	
Agitar con cuidado la microplaca durante 20-30 segundos y cubrirla. Incubar 1h a temperatura ambiente (22±28 °C). Eliminar el contenido de la microplaca mediante decantación o aspiración. Si se retira por decantación, secar la microplaca con papel absorbente. Añadir 300µl de solución de lavado, decantar o aspirar. Repetir 2 veces para un total de 3 lavados. Se puede usar un lavador de placas manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para un uso adecuado. Si se usa una botella comprimible, llenar cada pocillo evitando la formación de burbujas de aire. Decantar la solución de lavado y repetir otras 2 veces.			
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Incubar a temperatura ambiente (22±28 °C) durante 15 minutos.			
Solución de parada	100 µL	100 µL	100 µL
Mezclar con cuidado durante 15-20 segundos. Leer las absorbancias de cada pocillo a 450 nm frente al blanco (o usando una longitud de onda de referencia a 620-630 nm para minimizar las imperfecciones de los pocillos) con un lector de microplacas. Los resultados deben leerse en los treinta (30) minutos posteriores a la adición de la solución de parada.			

6. CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio deberá comprobar controles con niveles de hipotiroidismo, eutiroidismo e hipertiroidismo para supervisar el rendimiento del kit. Estos controles deben tratarse como desconocidos y sus valores deben determinarse en cada procedimiento de ensayo realizado.

Se deben mantener los gráficos de control de calidad para seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Se deben emplear métodos estadísticos pertinentes para determinar las tendencias. Cada laboratorio debe establecer los límites de aceptabilidad del rendimiento del kit. Entre otros parámetros que se deben controlar, se incluyen las intersecciones de 80, 50 y 20% de la curva estándar para la reproducibilidad interensayo. Además, la absorbancia máxima debe respetar los valores de las sesiones anteriores. Desviaciones significativas del rendimiento establecido pueden indicar un cambio inadvertido en las condiciones experimentales o la degradación de los reactivos del kit. Se deben usar reactivos frescos para determinar la causa de las variaciones.

7. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

7.1. Rendimiento del análisis

No usar muestras contaminadas microbiológicamente, ni muestras muy lipémicas o hemolizadas. Es importante que el tiempo de reacción de cada pocillo sea el mismo para obtener resultados reproducibles. El tiempo de dispensación de los pocillos no debe ser superior a 10 minutos. Si dura más de 10 minutos, se recomienda seguir el orden de dispensación. La adición del substrato TMB inicia una reacción cinética que se termina con la adición de la solución de parada. La adición del substrato y de la solución de parada debe realizarse en la misma secuencia para evitar distintos tiempos de reacción. Los lectores de microplacas miden las DO verticalmente. No tocar el fondo de los pocillos. Si no se aspira completamente la solución de lavado de los pocillos se pueden producir repeticiones pobres y resultados falsos.

7.2. Interpretación de los resultados

Si para calcular los resultados se ha usado el ordenador, es imprescindible que los valores de los calibradores se encuentren dentro del 10 % de las concentraciones asignadas.

8. RESULTADOS

8.1. Absorbancia media

Calcular la absorbancia media (E_m) de cada punto de la curva estándar (S_0-S_5) y de cada muestra.

8.2. Curva estándar

Trazar el gráfico de la absorbancia (E_m) en función de las concentraciones de los estándares (S_0-S_5). Trazar la curva de ajuste óptimo para los puntos estándar (p. ej.: Logística de cuatro parámetros).

8.3. Cálculo de los resultados

Interpolar del gráfico los valores de absorbancia relativos a cada muestra y leer la concentración correspondiente en pg/mL.

9. VALORES DE REFERENCIA

Se ha utilizado un estudio de población adulta eutiroides para determinar los valores esperados para el FT3 EIA KIT.

	Media (pg/mL)	SD	Rango (pg/mL)
Adultos	2,8	0,7	1,4 – 4,2
Embarazo	3,0	0,6	1,8 – 4,2

10. PARÁMETROS CARACTERÍSTICOS

10.1. Precisión

10.1.1. Intraensayo

La variabilidad dentro del mismo kit se ha determinado replicando (24x) la medición de tres sueros de control distintos. La variabilidad intraensayo es $\leq 4,94\%$.

10.1.2. Interensayo

La variabilidad entre distintos kits se ha determinado replicando (12x) la medición de tres sueros de control distintos con kits pertenecientes a lotes distintos. La variabilidad interensayo es $\leq 13,19\%$.

10.2. Sensibilidad

La concentración mínima de FT3 medible es 0,05 pg/mL con un límite de confianza del 95%.

10.3. Especificidad

La reactividad cruzada del anti-triyodotironina a determinadas sustancias se determinó mediante la adición de las soluciones interferentes, en concentraciones diferentes, a una matriz de suero. La reactividad cruzada se calculó analizando la relación entre la concentración de la sustancia interferente y la concentración de triyodotironina necesaria para desplazar la misma cantidad de conjugado.

Sustancia	Concentración	Reactividad cruzada
I-triyodo-tironina	-	1,0000
I-tiroxina	10 µg/mL	< 0,0002
d-tiroxina	10 µg/mL	< 0,0001
Yodo-tirosina	10 µg/mL	< 0,0001
Diodo-tirosina	10 µg/mL	< 0,0001
Ácido triyodotiroacético	10 µg/mL	< 0,0001
Fenilbutazona	10 µg/mL	< 0,0001
Salicilato de sodio	10 µg/mL	N/D
Fenitoína	10 µg/mL	N/D
Ácido oleico	10 nmol/l	N/D
Albumina	50 mg/mL	N/D
Hemoglobina	10 µl/mL de glóbulos rojos empacquetados añadidos al suero	N/D

10.4. Correlación con referencia RIA

El kit FT3 (Diametra) se ha comparado con un kit disponible en el mercado. Se han comprobado 151 muestras de suero. La curva de regresión es:

$$(FT3 \text{ Diametra}) = 0,923 * (FT3 \text{ RIA}) + 0,350$$

$$r^2 = 0,903$$

11. DISPOSICIONES PARA LA ELIMINACIÓN

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con las leyes locales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pederson K.O Scand. J. Clin. Lab Invest 34, 247 (1974)
2. Wild D, Immunoassay Handbook, Stockton Press, 339 (1994)
3. Wenzel, K.W., Metabolism 30, 717 (1981)
4. Bhagat,C.,et.al, Clin Chem 29, 1324 (1983)
5. Lundberg, P.R., et.al, Clin Chem 28, 1241 (1982)
6. Melmed, S. et.al, J Clin Endocrinol Metab 54, 300 (1982)
7. Lalloz M.R., et al, Clin Endocrinol, 18, 11 (1983)

Ed 06/2010

DCM037-7

DiaMetra S.r.l. Headquarter: Via Garibaldi, 18 – 20090 SEGRATE (MI) Italy

Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595

Fax 0039-02-2133354.

Manufactory: Via Giustozzi 35/35a - Z.I Paciana – 06034 FOLIGNO (PG) Italy

Tel. 0039-0742-24851

Fax 0039-0742-316197

E-mail: info@diametra.com

	DIA.METRA SRL	
Mod. PIS	PACKAGING INFORMATION SHEET	

IT*Spiegazione dei simboli***GB***Explanation of symbols***FR***Explication des symboles***ES***Significado de los símbolos***DE***Verwendete Symbole***PT***Explicação dos símbolos*

	DE In vitro Diagnostikum ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro FR Dispositif medical de diagnostic in vitro GB In vitro Diagnostic Medical Device IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro PT Dispositivos medicos de diagnostico in vitro		DE Hergestellt von ES Fabricante FR Fabriqué par GB Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
REF	DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Références du catalogue GB Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricación FR Date de fabrication GB Date of manufacture IT Data di produzione PT Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE Verwendbar bis ES Estable hasta (usar antes del último día del mes) FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) GB Use by (last day of the month) IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) PT Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE Biogefährdung ES Riesgo biológico FR Risque biologique GB Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
	DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consultar las instrucciones de uso FR Consulter le mode d'emploi GB Consult instructions for use IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso		DE Chargenbezeichnung ES Código del lote FR Numero de lot GB Batch code IT Codice del lotto PT Codigo do lote
 $\Sigma = xx$	DE Ausreichend für "h" Tests ES Contenido suficiente para "h" ensayos FR Contenu suffisant pour "h" tests GB Contains sufficient for "h" tests IT Contenuto sufficiente per "h" saggi PT Contém o suficiente para "h" testes		DE Inhalt ES Contenido del kit FR Contenu du coffret GB Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Límites de temperatura FR Limites de température de conservation GB Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		

	DIA.METRA SRL	
Mod. PIS	PACKAGING INFORMATION SHEET	

SUGERENCIAS PARA LA SOLUCIÓN DE PROBLEMAS/TROUBLESHOOTING

ERROR / POSIBLES CAUSAS / SUGERENCIAS

No se produce ninguna reacción colorimétrica del ensayo

- no se ha dispensado el conjugado
- contaminación del conjugado y/o del sustrato
- errores en la ejecución del ensayo (p. ej., dispensación accidental de los reactivos en orden incorrecto o procedentes de frascos equivocados, etc.)

Reacción escasa (DO demasiado bajas)

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado corto, temperatura de incubación demasiado baja

Reacción demasiado intensa (DO demasiado altas)

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado largo, temperatura de incubación demasiado alta
- calidad escasa del agua usada para la solución de lavado (bajo grado de desionización)
- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

Valores inexplicablemente fuera de escala

- contaminación de pipetas, puntas o contenedores- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

CV% intraensayo elevado

- los reactivos y/o tiras no se encontraban a temperatura ambiente antes del uso
- el lavador de microplacas no funciona correctamente (sugerencia: limpiar el cabezal del lavador)

CV% interensayo elevado

- condiciones de incubación no constantes (tiempo o temperatura)
- controles y muestras no dispensados al mismo tiempo (con los mismos intervalos) (controlar la secuencia de dispensación)
- variación en función de los operadores

ERROR POSSIBLE CAUSES / SUGGESTIONS

No colorimetric reaction

- no conjugate pipetted reaction after addition
- contamination of conjugates and/or of substrate
- errors in performing the assay procedure (e.g. accidental pipetting of reagents in a wrong sequence or from the wrong vial, etc.)

Too low reaction (too low ODs)

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too short, incubation temperature too low

Too high reaction (too high ODs)

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too long, incubation temperature too high
- water quality for wash buffer insufficient (low grade of deionization)
- insufficient washing (conjugates not properly removed)

Unexplainable outliers

- contamination of pipettes, tips or containers
- insufficient washing (conjugates not properly removed) too high within run
- reagents and/or strips not pre-warmed to CV% Room Temperature prior to use
- plate washer is not washing correctly (suggestion: clean washer head)
- too high between-run - incubation conditions not constant (time, CV % temperature)
- controls and samples not dispensed at the same time (with the same intervals) (check pipetting order)
- person-related variation