



DiaMetra



## T3

Determinación inmunoenzimática directa de T3 en suero o plasma humano

para análisis de rutina

IVD



LOT

Ver etiqueta externa

2°C 8°C



$\Sigma = 96$  ensayos

REF DKO044

### USO PREVISTO

Método competitivo inmunoenzimático colorimétrico para la determinación cuantitativa de la concentración de T3 en suero o plasma humano.

El kit T4 está destinado al uso en laboratorio exclusivamente.

### 1. SIGNIFICADO CLÍNICO

La triyodotironina (T3) es una hormona producida por la glándula tiroides. El yodo es un componente importante en la síntesis.

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

Solo la fracción libre de T3 es biológicamente activa; una fracción muy pequeña de la hormona circulante no está unida, el 0,3% de T3.

Las tironinas actúan en el organismo aumentando el metabolismo basal, intervienen en 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. Estas hormonas también regulan el metabolismo de las proteínas, de los lípidos 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.

Tanto el exceso como la falta de tiroxina pueden causar desórdenes. El hipertiroidismo es el síndrome clínico causado por un exceso de T3, T4 o ambas. Es un desorden común que afecta aproximadamente al 2% de las mujeres y al 0,2% de los hombres. El hipertiroidismo está causado por una falta de tiroxina. La liberación de T3 por la glándula tiroides en la sangre es de ~5-8  $\mu\text{g}/\text{día}$ . Además, aproximadamente 22 mg/día de T3 son producidos por la 5-monodeionización no tiroidea de T4. La T3 tiene una rotación más rápida que la T4 (vida media de T3 ~1, vida media de T4 ~6 días) y tiene una actividad biológica mayor con respecto a la T4. La concentración en suero de la T3 depende de múltiples factores: de la función de la glándula tiroides, de la TGB.

La medición de las concentraciones totales de T3 en suero es un estándar y una prueba validada de la función tiroidea.

### 2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El conjugado enzima-T3 no debe tener enlaces medibles con las proteínas del suero, especialmente TBG y albúmina. Después de la adición del antisuero inmovilizado, el conjugado enzima-T3 y el suero que contiene el antígeno T3 nativo, hay una reacción competitiva entre el T3 nativo y el conjugado enzima-T3 para un número limitado de sitios de enlace inmovilizados. Tras lograr el equilibrio, el conjugado unido a la fase sólida se separa de la fracción de conjugado libre mediante decantación o aspiración.

### 3. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

#### 3.1. Reactivos y materiales suministrados en el kit

1. Estándares (STD) de T3 (6 frascos, 1 mL cada uno)

STD0	REF DCE002/4406-0
STD1	REF DCE002/4407-0
STD2	REF DCE002/4408-0
STD3	REF DCE002/4409-0
STD4	REF DCE002/4410-0
STD5	REF DCE002/4411-0

2. T3 Control (1 frasco, 1 mL)

La concentración del Control se indica en el certificado de calidad (Quality Control Report)

REF DCE045/4403-0

3. Tampón de conjugado (1 frasco, 12,5 mL)

Tampón rojo, conservantes e inhibidores de las proteínas de unión

REF DCE002/4401-0

4. Conjugado (1 frasco, 1,4 mL)

T3 conjugado con peroxidasa de rabano (HRP)

REF DCE002/4402-0

5. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible)

Anti-T3 absorbido en la microplaca

REF DCE002/4403-0

6. Substrato TMB (1 frasco, 15 mL)

$\text{H}_2\text{O}_2$ -TMB (0,26 g/L)

(evitar el contacto con la piel) REF DCE004-0

7. Solución de interrupción (1 frasco, 15 mL)

Ácido sulfúrico 0,15 mol/L

(evitar el contacto con la piel) REF DCE005-0

8. 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 los reactivos a  $2\pm 8^{\circ}\text{C}$ , protegidos de la luz.

Abrir la bolsa del reactivo 5 (microplaca recubierta) solo cuando se encuentre a temperatura ambiente y cerrarla inmediatamente después de extraer las tiras que se vayan a utilizar; una vez abierta, permanece estable hasta la fecha de caducidad del kit.

#### 4. ADVERTENCIAS

- Este kit de ensayo está previsto para usarse in vitro y por personal experto.
- Usar los equipos de protección individual previstos al trabajar con los reactivos suministrados.
- El cromógeno TMB contiene un irritante que puede ser dañino si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para prevenir lesiones, evitar la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y con los ojos.
- La solución de interrupción está formada por una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo, y puede ser tóxico si se ingiere. Para prevenir posibles quemaduras químicas, evitar el contacto con la piel y con los ojos.
- Evite la exposición de los reactivos TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a la luz solar directa, metales u oxidantes. No congelar la solución.
- No usar para la detección en neonatos

#### 5. PRECAUCIONES

- Respetar rigurosamente la secuencia de los pasos indicados en este protocolo.
- Todos los reactivos deben conservarse a una temperatura controlada de  $2-8^{\circ}\text{C}$  en sus recipientes originales. Todas las excepciones están claramente marcados.
- Antes del uso, esperar hasta que todos los componentes del kit y las muestras se encuentren a temperatura ambiente ( $22-28^{\circ}\text{C}$ ) y mezclar cuidadosamente.
- No mezclar componentes de kits de lotes distintos. Se debe observar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja y de todas las ampollas. No usar componentes después de la fecha de caducidad.
- Si utiliza un equipo automático, es responsabilidad del usuario asegurar que el equipo ha sido debidamente validada.
- Un lavado incompleto o impreciso y la aspiración insuficiente del líquido de los pocillos ELISA pueden causar una precisión pobre y/o un elevado fondo.
- Para la reproducibilidad de los resultados, es importante que el tiempo de reacción sea igual para cada pocillo. El tiempo de dispensación de los pocillos no debe superar los 10 minutos; si se

prolongara más allá de los 10 minutos, respétese el orden de dispensación. Si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva de calibración en cada plato.

- Al añadir el sustrato TMB inicia una reacción cinética que termina al agregar la solución de interrupción. Tanto el sustrato como la solución de interrupción deben agregarse en la misma secuencia para evitar diferentes tiempos de reacción.
- Observar las directrices para la ejecución del control de calidad en los laboratorios clínicos al comprobar controles y/o pool de sueros.
- Observar la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No use muestras con contaminación microbiana, altamente lipémicas o hemolizadas.
- Los lectores de microplacas leen las DO verticalmente, por tanto no debe tocarse el fondo de los pocillos.

#### 6. PROCEDIMIENTO

##### 6.1. Preparación de los estándares (S<sub>0</sub>...S<sub>5</sub>)

Los estándares con suero de referencia para T3 tienen concentraciones aproximadas de:

	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
ng/dL	0	50	100	250	500	750

Los niveles exactos se indican en las etiquetas para cada lote específico. Listos para el uso. Conservar a  $2\pm 8^{\circ}\text{C}$ .

##### 6.2. Preparación del conjugado diluido

Diluir el conjugado 1:11 con el tampón de conjugado. (p. ej.: diluir 160  $\mu\text{L}$  en 1,6 mL de tampón de conjugado). Estable durante 24 horas a  $2\pm 8^{\circ}\text{C}$ .

##### 6.3. 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  $2\pm 8^{\circ}\text{C}$  durante al menos 30 días.

##### 6.4. 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 T3. Las muestras pueden conservarse refrigeradas a  $2\pm 8^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas. Conservar a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta 30 días. Si el ensayo se realiza por duplicado, se requieren 0,10 mL de la muestra.

##### 6.5. Procedimiento

Esperar hasta que todos los reactivos, sueros de referencia y controles se encuentren a temperatura ambiente ( $22\pm 28^{\circ}\text{C}$ ).

Reactivo	Estándar	Muestra/ Control	Blanco
Muestra/ Control		50 µL	
Estándares S <sub>0</sub> -S <sub>5</sub>	50 µL		
Conjugado diluido	100 µL	100 µL	
Incubar 1 hora a temperatura ambiente (22÷28°C). Retirar el contenido de cada pocillo y lavar los pocillos tres veces con 300 µL de solución de lavado diluida.			
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Incubar 15 minutos a temperatura ambiente (22÷28°C), protegida de la luz.			
Solución de interrupción	100 µL	100 µL	100 µL
Leer la absorbancia (E) a 450 nm frente al blanco en un plazo de 30 minutos desde la adición de la solución de interrupción			

## 7. 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.

### 7.1. 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.

El factor de conversión para la unidad de medida, a veces indicada en otros sistemas, es:

$$100 \text{ ng/dL} = 1 \text{ ng/mL}$$

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Nota

Absorbancia (S<sub>0</sub>) = > 1,0A.

### 8.2. Absorbancia media

Calcular la absorbancia media (Em) de cada punto de la curva estándar (S<sub>0</sub>-S<sub>5</sub>) y de cada muestra.

### 8.3. Curva estándar

Trazar en el gráfico de las absorbancias los valores calculados de las absorbancias medias (Em) de cada estándar (S<sub>0</sub>-S<sub>5</sub>) en función de las concentraciones. Trazar la curva de ajuste óptimo para los puntos estándar (p. ej.: Logística de cuatro parámetros).

### 8.4. Cálculo de los resultados

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

## 9. VALORES DE REFERENCIA

Se ha utilizado un estudio de población adulta eutiroides para determinar los valores esperados para el KIT T3 EIA.

	Media (ng/dL)	SD	Rango (ng/dL)
Valores	118,5	33,4	52-185

## 10. PARÁMETROS CARACTERÍSTICOS

### 10.1. Precisión

#### 10.1.1. Intraensayo

La variabilidad dentro del mismo kit se ha determinado replicando (20x) la medición de tres sueros de control distintos. La variabilidad intraensayo es ≤ 10,7%.

#### 10.1.2. Interensayo

La variabilidad entre distintos kits se ha determinado replicando (10x) la medición de tres sueros de control distintos con kits pertenecientes a lotes distintos. La variabilidad interensayo es ≤ 9,1%.

### 10.2. Exactitud

La prueba de recuperación realizada en muestras enriquecidas con 50 – 100 – 200 – 400 ng/dl de T3 ha dado un valor medio (±SD) de 97,5% ± 4%.

### 10.3. Sensibilidad

La concentración mínima de T3 medible es 5 ng/dl con un límite de confianza del 95%.

### 10.4. Especificidad

La reactividad cruzada del anti-triiodotironina 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 triiodotironina necesaria para desplazar la misma cantidad de conjugado.

Sustancias	Reactividad cruzada	Concentración
I-triyodo-tironina	1,0000	-
I-tiroxina	0,01	10 µg/dL
d-tiroxina	0,0025	10 µg/dL
d-triyodo-tironina	0,015	100 µg/dL
Monoyodo-tirosina	N/D	100 µg/mL
Diyodo-tirosina	N/D	100 µg/mL
Ácido triyodotiroacético	N/D	100 µg/mL
Ácido tetrayodotiroacético	N/D	100 µg/mL

### 10.5. Correlación con la dosis RIA

El kit T3 (Diametra) se ha comparado con un kit disponible en el mercado. Se han comprobado 140 muestras de suero. La curva de regresión es:

$$(T3 \text{ Diametra}) = 0,990 * (T3 \text{ RIA}) + 0,6025$$

$$r^2 = 0,982$$

## 11. DISPOSICIONES PARA LA ELIMINACIÓN

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con las leyes locales.

---

### BIBLIOGRAFÍA

- Gharib H., et al J. clinical endocrinal.; 33, 509 (1971)
- Chopra I.J, et al J. Lab Clinical Med., 80 729 (1971)
- Young D.S., et al Clinical Chemistry, 21 3660 (1975)
- Sterling L, Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland CRC Press, p.9-51 (1975)

**Ed 06/2011**

**DCM044-8**

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

Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595

Fax 0039-02-2133354.

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

Tel. 0039-0742-24851 Fax 0039-0742-316197

E-mail: info@diametra.com

	<b>DIA.METRA SRL</b>	
Mod. PIS	<b>PACKAGING INFORMATION SHEET</b>	

**IT**  
Spiegazione dei simboli

**GB**  
Explanation of symbols

**FR**  
Explication des symboles

**ES**  
Significado de los símbolos

**DE**  
Verwendete Symbole

**PT**  
Explicação dos símbolos

	<p>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</p>		<p>DE Hergestellt von  ES Fabricante  FR Fabriqué par  GB Manufacturer  IT Produttore  PT Produzido por</p>
<b>REF</b>	<p>DE Bestellnummer  ES Número de catálogo  FR Références du catalogue  GB Catalogue number  IT Numero di Catalogo  PT Número do catálogo</p>	 yyyy-mm	<p>DE Herstellungs datum  ES Fecha de fabricación  FR Date de fabrication  GB Date of manufacture  IT Data di produzione  PT Data de produção</p>
 yyyy-mm-dd	<p>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)</p>		<p>DE Biogefährdung  ES Riesgo biológico  FR Risque biologique  GB Biological risk  IT Rischio biologico  PT Risco biológico</p>
	<p>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</p>		<p>DE Chargenbezeichnung  ES Código del lote  FR Numero de lot  GB Batch code  IT Codice del lotto  PT Codigo do lote</p>
 $\Sigma = xx$	<p>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</p>		<p>DE Inhalt  ES Contenido del kit  FR Contenu du coffret  GB Contents of kit  IT Contenuto del kit  PT Conteúdo do kit</p>
 Max Min	<p>DE Temperaturbereich  ES Límites de temperatura  FR Limites de température de conservation  GB Temperature limitation  IT Limiti di temperatura  PT Temperaturas limites de conservação</p>		

	<b>DIA.METRA SRL</b>	
Mod. PIS	<b>PACKAGING INFORMATION SHEET</b>	

## **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