

Reactivo para la Determinación Cuantitativa de Triyodotironina (T3)**Solo para diagnóstico In Vitro**

**Para uso exclusivo en Laboratorios Clínicos o de Gabinetes
Conservar entre 2°C a 8°C**

NOMBRES COMUNES Y DE PROPIEDAD

Inmunoensayo de la Enzima de Triyodotironina

USO DESTINADO

Para la determinación cuantitativa de la hormona triyodotironina en suero humano. Este test está desarrollado para el diagnóstico y tratamiento de desórdenes tiroideos.

INTRODUCCIÓN

La glándula tiroidea humana es un componente importante del sistema endocrino. Las hormonas tiroideas realizan varias funciones importantes. Ejercen de manera potente y esencial influencias reguladoras en el crecimiento, diferenciación, metabolismo celular y equilibrio hormonal general del cuerpo, así como en el mantenimiento de la actividad metabólica y el desarrollo de los sistemas esqueléticos y órganos.

Las hormonas tiroideas tiroxina (T4) y 3,5,3' triyodotironina (T3), circulan en el torrente sanguíneo principalmente unidas a la proteína plasmática, globulina fijadora de tiroxina (TBG). La concentración de T3 es mucho menor que la de T4, pero su potencia metabólica es mucho mayor.

La determinación de T3 es un importante factor en el diagnóstico de enfermedades de la tiroidea. La determinación de T3 es particularmente útil para controlar tanto a los pacientes bajo tratamiento para el hipertiroidismo y pacientes que han suspendido la terapia con medicamentos anti-tiroideos. Es especialmente valioso para distinguir entre sujetos eutiroideos.

La medición de T3 ha descubierto una variante de hipertiroidismo en pacientes con tirotoxicosis con valores elevados de T3 y valores normales de T4. Del mismo modo, un aumento en T3 sin un aumento en T4 es frecuente en pacientes previamente tratados. Además del hipertiroidismo, los niveles de T3 son elevados en mujeres que no están embarazadas y en las mujeres que reciben anticonceptivos orales o tratamiento con estrógenos.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

En esta prueba de ELISA T3, una cierta cantidad de anticuerpo anti-T3 se recubre sobre los pocillos de microtitulación. Una cantidad medida de suero del paciente, y una cantidad constante de T3 conjugado con peroxidasa de rábano picante se añaden a los pocillos de microtitulación. Durante la incubación, el anticuerpo anti-T3 se une al segundo anticuerpo en los pocillos, T3 y T3 conjugado compiten por los sitios de unión limitada sobre el anticuerpo anti-T3. Después de una incubación de 60 minutos a temperatura ambiente, los pozos son lavados 5 veces para remover el conjugado T3 no unido. Una solución de TMB es entonces agregada e incubada por 20 minutos, provocando el desarrollo de color azul. El desarrollo del color es frenado con la adición de solución de paro y la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 450nm. La intensidad del color formado es proporcional a la cantidad de enzima presente

y está inversamente relacionada con la cantidad de T3 no marcada en la muestra. Para referencia una serie de estándares de T3 son ensayados de la misma manera, cuantificando la concentración de T3 en la muestra desconocida.

REACTIVOS**Materiales abastecidos con el equipo de prueba para 96 pruebas**

1. Placa de micropozos cubiertos de anticuerpos con 96 pozos
2. Concentrado de enzima conjugada. 1 Vial
3. Diluyente de enzima conjugada. 1 Frasco
4. Juego de estándares de referencia. En forma líquida (listo para su uso) o liofilizado
5. Reactivo TMB. 1 Frasco
6. Solución de paro. 1 Frasco
7. Solución búfer de lavado concentrado (50x)

Materiales requeridos pero no abastecidos

1. Pipetas de precisión 40 µL-200 µL, 200 µL-1000 µL, 1.0 mL-5.0 mL
2. Puntas para pipetas desechables.
3. Agua destilada o desionizada
4. Mezclador Vórtex o equivalente.
5. Papel absorbente o toalla de papel
6. Papel cuadrículado
7. Un lector de MicroElisa.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPÉCIMEN

El suero debe ser preparado de un espécimen de sangre entera obtenida por medio de técnicas médicas aceptables. Este equipo de prueba es para uso solamente con muestras de suero sin aditivos.

PREPARACIÓN DE REACTIVO

1. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18 a 22 °C) antes de su uso.
2. Para preparar el conjugado de trabajo añada 0.1 mL del concentrado de conjugado T3-HRPO a 2.0 mL del Diluyente de Conjugado T3 (dilución 1:20) y mezcle bien. La cantidad de conjugado diluido depende del tamaño del ensayo. El conjugado de trabajo es estable a 4°C al menos por dos semanas.
3. Si los estándares de referencia se presentan liofilizados, reconstituya cada estándar liofilizado con 0.5 mL de agua destilada. Permita que el material reconstituido repose por al menos 20 minutos y mezcle cuidadosamente. Los estándares reconstituidos serán estables por 30 días siempre y cuando sean almacenados de 2-8°C.
4. Diluir un volumen de búfer de lavado concentrado (50x) en 49 volúmenes de agua destilada. Por ejemplo, diluir 15 mL de búfer de lavado concentrado (50x) en 735 mL de agua destilada para preparar un volumen final de 750 mL de búfer de lavado (1x). Mezcle bien antes de su uso.

El ensayo T3 es sensible a la temperatura. La mejor condición de temperatura para este ensayo es de 19°C a 22°C. Si en la condición de ensayo del medio ambiente, la temperatura es más alta de lo esperado, recomendamos incrementar la dilución T3 conjugado (por ejemplo, 1:40) o la reducción del tiempo de incubación.



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el soporte. Elabore una hoja de datos con la identificación de las muestras.
2. Dispense 50 µL de estándares, muestras, y controles en los pozos apropiados.
3. Mezcle perfectamente por 10 segundos, después agregue 100 µL de conjugado de trabajo en cada pozo.
4. Mezcle perfectamente por 30 segundos. Es muy importante tener un mezclado completo en este paso.
5. Incube a temperatura ambiente por 60 minutos.
6. Retire la mezcla de incubación con un movimiento rápido los contenidos de la placa en un recipiente para desechos.
7. Enjuague y vacíe los micropozos 5 veces con búfer de lavado (1x).
8. Golpee suavemente los pozos sobre el papel absorbente o toallas de papel para remover todas las gotas de agua residuales.
9. Dispense 100 µL de reactivo TMB en cada pozo, mezcle perfectamente por 5 segundos.
10. Incube a temperatura ambiente en la oscuridad por 20 minutos sin agitar.
11. Frene la reacción al agregar 100 µL de solución de paro a cada pozo.
12. Mezcle cuidadosamente por 15 segundos. *Es importante asegurarse que todo el color azul cambie a color amarillo totalmente.*
13. Lea la densidad óptica a 450 nm con un lector de microplaca dentro de un plazo de 15 minutos.

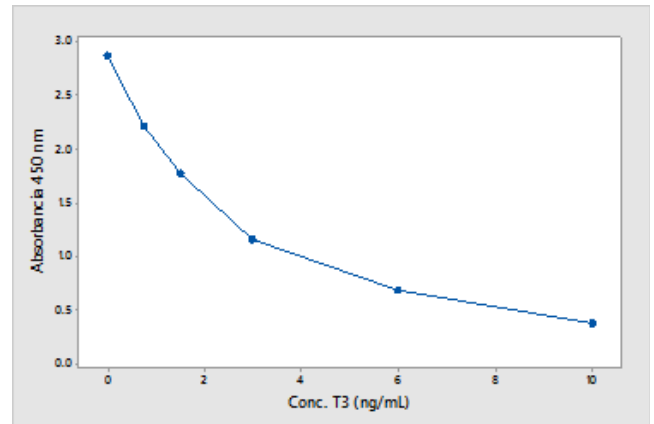
CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

1. Calcule el valor de absorbancia media (A_{450}) para cada juego de estándares de referencia, controles, y muestras.
2. Se recomienda utilizar un software apropiado para calcular los resultados. Si el software no está disponible, elabore una curva estándar al trazar la absorbancia media obtenida para cada estándar de referencia comparada con su concentración en ng/mL sobre un papel cuadrícula, con valores de absorbancia sobre el eje Y o vertical y las concentraciones sobre el eje X u horizontal.
3. Utilizando los valores de absorbancia media para cada muestra, determine la concentración correspondiente de T3 en ng/mL desde la curva estándar.

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Esta curva estándar tiene el propósito de ilustrar solamente, y no debe ser utilizada para hacer cálculos desconocidos. Cada laboratorio debe obtener sus propios datos y curva estándar en cada ensayo. Los valores de absorbancia (450 nm) pueden variar debido a la incubación a diferente temperatura en diferentes laboratorios.

T3 (ng/mL)	DO 450 nm		
	I	II	Media
0.0	2.91	2.83	2.87
0.5	2.23	2.22	2.22
1.0	1.80	1.74	1.77
2.5	1.20	1.12	1.16
5.0	0.70	0.66	0.68
10.0	0.41	0.32	0.37



VALORES Y SENSIBILIDAD ESPERADOS

La sensibilidad de esta prueba de ELISA para T3 Total es estimada en 0.25 ng/mL.

Rango Normal: 0.6 - 2.0 ng/mL

REFERENCIAS

1. Walker W.H.C. *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. Lieblich J., Utiger R.D. *J. Clin. Invest.* 1972; 51:1939

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:
INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS
1155 CHESS DRIVE No. 121
FOSTER CITY, CA 94404 USA