



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)



*Utilice solo la versión válida del prospecto proporcionado con el kit.***Para uso diagnóstico in vitro**

Almacenar de 2 a 8 ° C.

I. USO PREVISTO

Para la determinación cuantitativa de la concentración total de tiroxina (T4) en suero humano. La prueba es útil en el diagnóstico y tratamiento de trastornos de la tiroides.

II EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Las hormonas tiroideas tiroxina (T4) y triyodotironina (T3) se sintetizan y almacenan en la glándula tiroides y circulan en el torrente sanguíneo principalmente unidas a la proteína plasmática, la globulina fijadora de tiroxina (TBG) .1 La glándula tiroides y las hormonas asociadas son las principales componente del sistema endocrino. Ejercen influencias reguladoras poderosas y esenciales sobre el crecimiento, la diferenciación, el metabolismo celular y el equilibrio hormonal general del cuerpo. La escisión proteolítica de la tiroglobulina folicular libera T4 en el torrente sanguíneo. Más del 99% de T4 se une reversiblemente a tres proteínas plasmáticas en la sangre: la globulina de unión a tiroxina (TBG) se une al 70%, la prealbúmina de unión a tiroxina (TBPA) se une al 20% y la albúmina se une al 10% .2,3 Aproximadamente 0.03% de T4 está en el estado libre, no unido en sangre en cualquier momento.

Las enfermedades que afectan la función tiroidea pueden presentar una amplia gama de síntomas confusos1. La medición del total de T4, TSH, T3 libre y T4 libre mediante inmunoensayo son métodos confiables y convenientes para determinar la presencia de trastornos de la tiroides en pacientes4,5. Se han encontrado niveles aumentados de T4 en el hipertiroidismo debido a la enfermedad de Grave y la enfermedad de Plummer y en tiroiditis aguda y subaguda. Los bajos niveles de T4 se han asociado con hipotiroidismo congénito, mixedema, tiroiditis crónica (enfermedad de Hashimoto) y con algunas anomalías genéticas.

III. PRINCIPIO DEL ENSAYO

Para medir la T4 mediante técnicas de inmunoensayo competitivas, una muestra de suero o plasma que contiene la T4 a cuantificar se mezcla con los anticuerpos marcados T4 y T4.6,7 La T4 marcada contiene ácido 8-anilino-1-naftalensulfónico (ANS) para inhibir unión de T4 a proteínas séricas, que de lo contrario interferirían con el ensayo. Durante la incubación, una cantidad fija de T4 marcada compite con la T4 no marcada en el suero de muestra, estándar o de control de calidad por un número fijo de sitios de unión en el anticuerpo T4 específico.

La separación de la T4 no unida de la T4 unida al anticuerpo y la medición posterior de la fracción marcada de la fase unida completa la prueba. Al comparar los resultados de la muestra desconocida

DRG International Inc., USA

Fax: (973) 564-7556

● E-mail: corp@drg-international.com ● Web: www.drg-international.com

**Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)**

con los obtenidos de una serie de calibradores T4, se puede obtener una medición precisa de la concentración de T4 en la muestra.

En el ELISA T4 (EIA-1781), el anticuerpo contra T4 se recubre en una fase sólida (pocillo de microtitulación). Se agrega una cantidad medida de suero del paciente y una cantidad constante de T4 marcada con peroxidasa de rábano picante. Durante la incubación, T4 en la muestra del paciente y T4 marcado con enzima compiten por los sitios de unión limitados en el anticuerpo T4. Después de una incubación de 60 minutos a temperatura ambiente, la fase sólida se lava con agua para eliminar T4 sin unir. Se agrega una solución de tetrametilbencidina (TMB) y se incuba durante 20 minutos, dando como resultado el desarrollo de un color azul. El desarrollo del color se detiene con la adición de HCl 1N, y el color amarillo resultante se mide espectrofotométricamente a 450 nm. La intensidad del color formado es proporcional a la cantidad de enzima presente y está inversamente relacionada con la cantidad de T4 en la muestra del paciente. Por referencia a una serie de calibradores procesados de la misma manera, se determina la concentración de T4 en la muestra desconocida.

IV. REACTIVOS Y MATERIALES PROVISTOS

1. Pozos recubiertos con anticuerpos (1 placa, 96 pozos)
Pozos de microtitulación recubiertos con oveja anti-T4.
2. Concentrado de conjugado enzimático 11X (1.3 mL)
Contiene conjugado T4-HRP
3. Diluyente de conjugado enzimático (1 frasco, 13 ml)
Contiene ANS, TRIS buffer, pH = 7.60 y ProClin-300.
4. Conjunto estándar de referencia (1 ml / vial)
Contiene 0, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 y 25.0 µg / dL en suero humano despojado sin T3 / T4, 1 juego, líquido, listo para usar.
5. Reactivo TMB (1 frasco, 11 ml) Contiene 3, 3', 5, 5' tetrametilbencidina (TMB) estabilizada en solución tampón.
6. Solución de parada (HCl 1 N) (1 frasco, 11 ml) Contiene ácido clorhídrico diluido.

V. MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS

1. Agua destilada o desionizada
2. Pipetas de precisión: 25 µL, 100 µL, 200 µL y 1 ml
3. Puntas de pipeta desechables
4. Lector de pocillos de microtitulación capaz de leer la absorbancia a 450 nm.
5. papel absorbente
6. Papel cuadriculado
7. Mezclador Vortex o equivalente
8. Material de control de calidad (p. Ej., Sueros BioRad Lyphocheck Control)



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)



VI. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- 1. PRECAUCIÓN** Este kit contiene material humano. El material fuente utilizado para la fabricación de este kit resultó negativo para HBsAg, VIH 1/2 y VHC por métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método puede asegurar completamente la ausencia de estos agentes. Por lo tanto, todos los productos sanguíneos humanos, incluidas las muestras de suero, deben considerarse potencialmente infecciosos. El manejo y la eliminación deben ser definidos por una directriz o reglamento nacional de seguridad contra riesgos biológicos, donde exista.
2. No use reactivos después de la fecha de vencimiento y no mezcle ni use componentes de kits con diferentes números de lote.
3. No use el reactivo cuando esté turbio o se sospeche contaminación.
4. No use el reactivo si el vial está dañado.
5. Reemplace las tapas de los reactivos inmediatamente. No cambie las tapas.
6. Cada pozo se puede usar solo una vez.
7. No pipetear reactivos por la boca.
8. Las soluciones que contienen aditivos o conservantes, como la azida de sodio, no deben usarse en la reacción enzimática.
9. Evite el contacto con 1N HCl. Puede causar irritación de la piel y quemaduras. Si se produce contacto, lave con abundante agua y busque atención médica si la irritación persiste.
10. Para uso diagnóstico in vitro.

VII. CONDICIONES DE ALMACENAJE

1. Almacene el kit sin abrir a 2 ° C - 8 ° C al recibirlo y cuando no esté en uso, hasta el vencimiento que se muestra en la etiqueta del kit. Consulte la etiqueta del paquete para la fecha de vencimiento.
2. Los reactivos abiertos y usados son estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan adecuadamente a 2 ° C - 8 ° C.
3. Mantenga la placa de microtitulación en una bolsa sellada con desecante para minimizar la exposición a la humedad.

VIII. INSTRUMENTACIÓN

Un lector de pocillos de microtitulación con un ancho de banda de 10 nm o menos y un rango de densidad óptica de 0 a 2 OD o mayor a una longitud de onda de 450 nm es aceptable para la medición de absorbancia.

IX. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

1. El suero es la muestra de elección. La sangre debe extraerse utilizando la técnica de punción venosa estándar y el suero debe separarse de los glóbulos rojos tan pronto como sea posible. Evite muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)



2. Las muestras de plasma recolectadas en tubos que contienen EDTA, heparina u oxalato pueden interferir con el procedimiento de prueba.

3. Las muestras deben taparse y almacenarse hasta 48 horas a 2 ° C - 8 ° C antes del análisis. Las muestras retenidas durante más tiempo (hasta 6 meses) deben congelarse solo una vez a -20 * C antes del análisis. Las muestras descongeladas deben invertirse varias veces antes de la prueba.

X. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

1. Se debe permitir que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18 ° C - 25 ° C) antes de su uso, y se deben mezclar mediante inversión suave o remolinos. No induzca espuma.

2. Preparar **Reactivo conjugado de trabajo T4-HRPO**: agregue 0.1 mL de concentrado de conjugado T4-HRPO (11x) a 1.0 mL de diluyente de conjugado T4 (dilución 1:10) y mezcle bien.

La cantidad de conjugado diluido depende del tamaño del ensayo.

El reactivo conjugado de trabajo es estable a 4 ° C durante 24 horas.

Notas de procedimiento

1. Pipeteo manual: se recomienda que no se utilicen más de 32 pocillos para cada análisis. El pipeteo de todos los estándares, muestras y controles debe completarse en 3 minutos. Se recomienda una pipeta multicanal.

2. Pipeteo automatizado: se puede usar una placa llena de 96 pocillos en cada prueba. Sin embargo, se recomienda completar el pipeteo de todos los estándares, muestras y controles en 3 minutos.

Todos los estándares, muestras y controles deben ejecutarse por duplicado al mismo tiempo para que todas las condiciones de prueba sean las mismas.

4. Se recomienda que los pozos se lean dentro de los 15 minutos posteriores a la adición de la Solución de parada

XI PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos recubiertos en el soporte.

2. Pipetee 25 µL de estándares, muestras y controles en los pozos apropiados.

3. Agregue 100 µL de reactivo de conjugado de trabajo en cada pocillo.

4. Mezcle bien por 30 segundos.

5. Incubar a temperatura ambiente (18 ° C - 25 ° C) durante 60 minutos.

6. Retire la mezcla de incubación moviendo el contenido de la placa en un contenedor de desechos.

7. Enjuague y agite los pocillos de microtitulación 5 veces con H₂O destilada.

8. Golpee los pozos con fuerza sobre papel absorbente o toallas de papel para eliminar todas las gotas de agua residual.

9. Dispense 100 µL de Reactivo TMB en cada pocillo. Mezcle suavemente por 5 segundos.

10. Incubar a temperatura ambiente, en la oscuridad, durante 20 minutos.

11. Detenga la reacción agregando 100 µL de solución de parada a cada pocillo.



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)



12. Mezcle suavemente por 30 segundos. Asegúrese de que todo el color azul cambie completamente a amarillo.
13. Lea la absorbancia a 450 nm con un lector de placa de microtitulación en 15 minutos.

XII CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Calcule el valor medio de absorbancia (DO 450 nm) del conjunto duplicado de estándares de referencia, controles y muestras.
2. Construya una curva estándar trazando la absorbancia media obtenida para cada estándar de referencia contra su concentración en ng / mL en papel cuadrículado log-log, con absorbancia en el eje vertical (y) y concentración en el eje horizontal (x).
3. Usando el valor de absorbancia promedio para cada muestra, determine la concentración correspondiente de T4 en µg / dL a partir de la curva estándar. Dependiendo de la experiencia y / o la disponibilidad de capacidad informática, pueden emplearse otros métodos de reducción de datos.
4. Cualquier muestra diluida debe ser corregida adicionalmente por el factor de dilución apropiado.

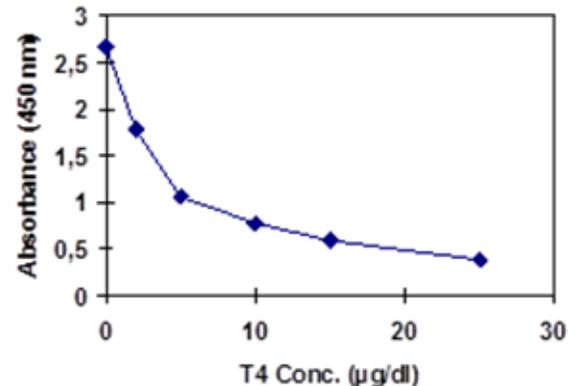
A. Calibración del ensayo

Los estándares T4 están calibrados contra la prueba RIA Total T4 Coat-A-Count de Diagnostic Products Corporation. La precisión de esta calibración es de $100 \pm 5\%$. Por lo tanto, la precisión de las muestras de pacientes analizadas con el ELISA T4 total (EIA-1781) puede variar en $\pm 5\%$.

B. Ejemplo de curva estándar

A continuación se presentan los resultados de una ejecución estándar típica con lecturas de densidad óptica a 450 nm mostradas en el eje Y frente a las concentraciones totales de T4 (µg / dL) mostradas en el eje X. NOTA: la curva estándar es solo para ilustración y no debe usarse para calcular incógnitas. Cada laboratorio debe proporcionar sus propios datos y curva estándar para cada ejecución de ensayo. Además, los valores de absorbancia (450 nm) se pueden variar debido a la incubación a diferentes temperaturas ambiente en diferentes laboratorios.

Total T4 (µg/dL)	Absorbancia (450 nm)
0	2.667
2	1.786
5	1.060
10	0.778
15	0.591
25	0.384



**Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)**

Valores esperados

El ELISA T4 (EIA-1781) se utilizó en un estudio de 200 muestras de pacientes eutiroideos (según lo determinado por el análisis de laboratorio del hospital) en una ubicación geográfica y arrojó un rango normal de 5.0 a 13.0 µg / dL.

El rango fue determinado por los valores observados y corresponde a los sugeridos por otros fabricantes comerciales.

Se recomienda que los laboratorios ajusten los valores para reflejar las diferencias geográficas y de población.

Control de calidad

Las buenas prácticas de laboratorio requieren que se ejecuten muestras de control (controles) de baja, media y alta calidad con cada curva de calibración para verificar el rendimiento del ensayo. Para garantizar un rendimiento adecuado, se debe analizar un número estadísticamente significativo de controles para establecer valores medios y rangos aceptables. No se deben usar controles que contengan azida de sodio.

Características de presentación**1. precisión**

Un estudio estadístico con 82 muestras de pacientes (rango = 1.3 - 24.5 µg / dL) demostró una buena correlación de resultados con el kit AxSym® Total T4 de Abbott:

N = 82

Coefficiente de correlación = 0.954

Pendiente = 0.914

Intercepción = 1.049

EIA-1781 Media = 9.9 µg / dL

Abbott AxSym Media = 10.1 µg / dL

Otro estudio con 107 muestras de pacientes (rango = 2.2 - 29.7 µg / dL) demostró una buena correlación de resultados con el kit Total T4 EIA de Monobind como se muestra a continuación: "

N = 107

Coefficiente de correlación = 0.978

Pendiente = 0.938

Intercepción = 0.485

BioCheck Media = 10.1 µg / dl

Monobind Mean = 10.0 µg / dl



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)

**2. sensibilidad**

La concentración mínima detectable de T4 que se puede definir mediante este ensayo es de 0,5 µg/ dL.

3. Precisión**a. Precisión intraensayo**

La precisión dentro del experimento se determinó mediante la replicación de determinaciones de tres sueros de control diferentes en 1 ensayo.

Muestra de suero	1	2	3
Cantidad de réplicas	26	26	26
T4 media (µg / dL)	3.95	8.65	20.51
Desviación Estándar	0.17	0.27	0.80
Coefficiente de variación (%)	4.3%	3.1%	3.9%

b. Precisión entre ensayos

La precisión entre corridas se determinó mediante mediciones repetidas de tres muestras de suero diferentes en varios ensayos diferentes.

Muestra de suero	1	2	3
Cantidad de réplicas	26	26	26
T4 media (µg / dL)	4.29	8.71	19.01
Desviación Estándar	0.19	0.35	0.45
Coefficiente de variación (%)	4.5%	4.0%	2.4%

4. Estudios de recuperación y linealidad.

 DRG International Inc., USA

Fax: (973) 564-7556

 • E-mail: corp@drg-international.com • Web: www.drg-international.com



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)

**Recuperación**

Varias muestras de suero de pacientes con niveles conocidos de T4 se combinaron y analizaron por duplicado. La recuperación media fue del 96,7%.

Concentración esperada (µg/dL)	Concentración observada (µg / dL)	% Recuperación
19.49	20.06	102.9%
8.36	6.98	83.5%
6.17	6.20	100.5%
4.11	3.58	87.1%
3.36	3.67	109.2%
1.66	1.52	91.6%
Recuperación media #1 = 95.8%		
21.52	22.04	102.4%
14.85	13.78	92.8%
6.70	6.89	102.8%
1.70	1.56	91.8%
Recuperación media #2 = 97.5%		

b linealidad

Dos muestras se diluyeron en serie con suero humano libre de T3 / T4 para determinar la linealidad. La recuperación media fue del 98,8% .

#	Dilución	Conc. Esperada (µg/dL)	Conc. Observada (µg/dL)	% Esperada
1.	Sin diluir	----	15.12	----
	1:2	7.56	7.50	99.2%
	1:4	3.78	3.80	100.5%
	1:8	1.89	1.74	91.9%
				Promedio=97.2%
2.	Sin diluir	----	16.74	----
	1:2	8.37	8.86	105.7%
	1:4	4.19	4.18	99.8%
	1:8	2.09	1.80	86.0%
				Promedio =100.4%



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)

**5. Especificidad**

Las siguientes sustancias fueron probadas para reactividad cruzada:

MATERIAL PROBADO	CONCENTRACIÓN	INTENSIDAD DE COLOR EQUIVALENTE to T4 (µg/dL)
L-tiroxina (T4)	2 µg/dL	2.22
	4 µg/dL	3.80
	6 µg/dL	5.53
	8 µg/dL	8.79
D-tiroxina (T4)	2 µg/dL	2.61
	4 µg/dL	4.38
	6 µg/dL	6.84
	8 µg/dL	9.13
Triiodo-L-Thyronina	0.5 µg/dL	0.20
	2 µg/dL	0.47
	4 µg/dL	0.68
	6 µg/dL	1.36
	8 µg/dL	1.58
Triiodo-D-Thronina	0.5 µg/dL	0.16
	2 µg/dL	0.40
	4 µg/dL	0.60
	6 µg/dL	1.20
	8 µg/dL	1.40
Ácido triyodotiroacético	0.5 µg/dL	0.00
	2 µg/dL	0.05
	6 µg/dL	0.10
	10 µg/dL	0.25
	25 µg/dL	0.60
	100 µg/dL	2.90
Monoyodotirosina	1,000 µg/dL	0.00
	5,000 µg/dL	0.27
Diyodotirosina	1,000 µg/dL	0.00
	5,000 µg/dL	0.00
Metimazol	5,000 µg/dL	0.00
	50,000 µg/dL	0.00
	2,000,000 µg/dL	0.00
5,5'-Difenilhidantoína	1,000 µg/dL	0.00
	50,000 µg/dL	0.00
	250,000 µg/dL	0.00
Fenilbutazona	5,000 µg/dL	0.00
	1,000,000 µg/dL	0.00



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)



6-n-propil-2-tiouracilo	1,000 µg/dL	0.00
	10,000 µg/dL	0.00
	25,000 µg/dL	0.00
Ácido salicílico	500 µg/dL	0.00
	50,000 µg/dL	0.00
	100,000 µg/dL	0.00
Ácido acetilsalicílico	5,000 µg/dL	0.32
	50,000 µg/dL	0.42

XIII. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Se obtendrán resultados confiables y reproducibles cuando el procedimiento de ensayo se lleve a cabo con buenas prácticas de laboratorio y con el cumplimiento de las instrucciones del prospecto.
2. Los resultados obtenidos del uso de este kit deben usarse solo como un complemento de otros procedimientos de diagnóstico e información disponible para el médico.
3. Las muestras de suero con concentraciones de T4 superiores a 25 µg / dL deben informarse como tales. Si se desea una cuantificación adicional, la muestra debe diluirse con el Estándar Cero y volverse a analizar. El valor obtenido debe multiplicarse por el factor de dilución para obtener el verdadero valor sérico.
4. Las muestras ictericas con valores de bilirrubina tan altos como 5 mg / dl no afectan el ensayo. Además, los niveles de hemoglobina añadidos de hasta 100 mg / dl no mostraron ningún efecto sobre el valor de T4.
5. Los valores totales de T4 en suero pueden estar influenciados por una variedad de factores distintos del mal funcionamiento de la tiroides. Los niveles altos de TSH, el embarazo, la terapia con estrógenos, los anticonceptivos orales, la heparina, la fenitoína y el propranolol pueden producir resultados no válidos.
6. El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente dará como resultado una precisión pobre y lecturas de absorbancia falsamente elevadas.

**Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)**

XIV. REFERENCIAS / LITERATURA

- 1.Schall, R. F. Jr., Fraser, A.S., Hansen, H.W., Kern, C.W., and Teneso H.J., A Sensitive Manual Enzyme Immunoassay for Thyroxine, Clin. Chem. 24 (10): 1801 (1978).
- 2.Robbins, J., "Thyroxine-Binding Protein in Serum" in Laboratory Diagnosis of Endocrine Diseases, (Sunderman and Sunderman, Eds.), Warren H. Green, Inc., St. Louis, MO, p. 221 (1971).
- 3.Larsen, P.R., et al., "Immunoassay of Thyroxine in Unextracted Human Serum", J. Clin. Endocrinol. Metabl., 37:177 (1973)
- 4.Ravel, R., Clinical Laboratory Medicine, Year Book Medical Publ., Chicago (1973)
- 5.Robbins, J., "Radioassay and Thyroid Gland", Metabolism, 22(8):1021 (1973)
- 6.Skelley, D., Brown, L., and Besch, P., "Radioimmunoassay", Clin. Chem., 19(2):146 (1973)
- 7.Walker, W.H.C., "Introduction: An Approach to Immunoassay", Clin. Chem., 23(2):384 (1977).
- 8.USA Center for Disease Control/National Institute of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1984.



Revised 1 Apr. 2011 rm (Vers. 5.0)



SÍMBOLOS UTILIZADOS CON LOS ENSAYOS DRG

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	Italiano
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Para uso Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Numéro de catalogue	Número de catálogo	Numero di Catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	Numéro de lot	Número de lote	Numero di lotto
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeits-datum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
Distributed by	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
Content	Content	Inhalt	Conditionnement	Contenido	Contenuto
Volume/No.	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantité	Volumen/Número	Volume/Quantità