



**Tiroxina Total (tT4);  
Triyodotironina Total (tT3);  
Hormona Estimulante de la Tiroides  
(TSH)  
Panel de Tiroides**

**Código del Producto: 8025-300**

**1.0 INTRODUCCIÓN**

**Propósito:** La Determinación cuantitativa de la Concentración de Tiroxina total; Triyodotironina total; hormona estimulante de la tiroides para un estado de tiroides integral en muestras de Suero Humano o plasma mediante un ensayo inmunoenzimométrico con microplacas.

**2.0 RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA**

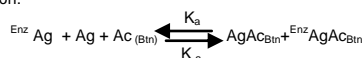
La medición de las hormonas (tT3, tT4 y TSH) son generalmente consideradas como pruebas de diagnóstico *in vitro* invalorable para evaluar la función tiroidea completamente. Esta importancia ha suministrado el impulso para la significante mejora en la metodología de ensayo que ha ocurrido en las últimas tres décadas. Esta evolución del procedimiento puede ser evidenciada de la proteína empírica atada a la prueba de todo para el radioinmunoensayo sofisticado teóricamente y actualmente usado EIA, ELISA, FIA y quimioluminiscencia.

La combinación del panel de tiroides (CTP) suministra la conveniencia de calibradores combinados, placas universales, y la selección de reactivos flexibles dando las técnicas para realizar una variedad de ensayos diseñados. En este método, el suero de referencia, la muestra del paciente, o el control, se adicionan primero al pozo de microplaca. El conjugado enzima-T4 (T3) y el anticuerpo tT3 o tT4 con biotina son adicionados, y luego mezclados los reactivos. En el caso del TSH, la biotina y el conjugado de enzima son adicionados en un solo paso. Una reacción resulta entre el conjugado de enzima, el conjugado con biotina y la hormona tiroidea nativa (tT3, tT4 o TSH) para los sitios de combinación del anticuerpo. La inmovilización se lleva a cabo a través de la reacción de incorporar biotina y la cubierta de estreptavidina en el micropozo. Después del periodo de incubación requerido para la competencia, la enzima conjugada unida es separada de la enzima conjugada no unida, mediante aspiración o decantación. La activada de enzima presente sobre la superficie de los posos en cuantificada mediante la reacción con un sustrato que produce color.

El empleo de varios sueros de referencia de concentraciones conocidas de hormona tiroidea permite la construcción de una grafica de actividad y concentración. A partir de la comparación sobre curva dosis y respuestas, la actividad de una muestra desconocida puede ser correlacionada con la concentración de la hormona.

**3.0 PRINCIPIO**

**Ensayo Inmunoenzimométrico competitivo (tT3- tT4)-Tipo 7**  
Los reactivos esenciales requeridos para un ensayo inmunoenzimométrico incluyen anticuerpos, conjugado antígeno-enzima, antígeno nativo y un sustrato que emite luz. Luego de mezclar el anticuerpo con biotina, el conjugado antígeno-enzima y un suero que contiene antígeno nativo, la reacción de competición resulta entre el antígeno nativo y el conjugado antígeno-enzima, por un número limitado de sitios de unión del anticuerpo. La interacción es ilustrada por la siguiente ecuación:



Ac<sub>(CW)</sub> = Anticuerpo mono-especifico inmovilizado (cantidad constante)

Ag = Antígeno nativo (Cantidad variable)

EnzAg = conjugado antígeno-enzima (Cantidad en constante)

AgAc<sub>Bn</sub> = complejo Antígeno-Anticuerpo

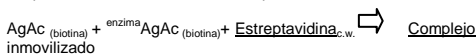
EnzAgAc<sub>Bn</sub> = Complejo anticuerpo-conjugado antígeno-enzima

K<sub>a</sub> = Tasa Constante de Asociación

K<sub>-a</sub> = Tasa Constante de Disociación

K = K<sub>a</sub>/K<sub>-a</sub> = Equilibrio constante

Ocurre una reacción simultánea, entre la biotina adherida al anticuerpo y la estreptavidina inmovilizada sobre el micropozo. Esto resulta en la separación del anticuerpo unido a la fracción después de la decantación o a la aspiración.



Streptavidina<sub>CW</sub> = Streptavidina inmovilizada en el pozo

Complejo Inmovilizado = Complejo sándwich unido a la superficie sólida

La actividad de la enzima en la fracción unida al anticuerpo es medida mediante la reacción con luminol, es inversamente proporcional a la concentración del antígeno nativo. Para utilizar sueros de referencia de concentración de antígeno desconocido, una curva dosis respuesta puede ser generada a partir de la cual la concentración del antígeno de una muestra desconocida puede ser encontrada.

**Ensayo Inmunoenzimométrico (TSH)- TIPO 3**

Los reactivos esenciales requeridos para un ensayo inmunoenzimométrico incluyen mayor afinidad y especificidad de los anticuerpos (enzima conjugada e inmovilizada), con diferentes y distintos reconocimientos de epitopes, **en exceso**, un antígeno nativo. En este procedimiento, la inmovilización toma lugar durante el ensayo a la superficie de una microplaca bien a través de la interacción de estreptavidina que cubre los pocillos y con el anticuerpo anti-TSH monoclonal con biotina agregado exógenamente.

Después de la mezcla del anticuerpo monoclonal biotinilado, el anticuerpo marcado con enzima y un suero que contiene antígeno nativo, la reacción resulta entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia u obstáculo estérico, para formar un complejo soluble de sándwich. La interacción es ilustrada por la siguiente ecuación:



Bn Ac<sub>(m)</sub> = Anticuerpo Monoclonal con Biotina (Cantidad en exceso)

Ag<sub>TSH</sub> = Antígeno nativo (Cantidad variable)

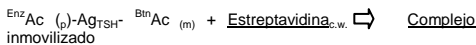
Enz AC<sub>(p)</sub> = Anticuerpo policlonal - enzima (Cantidad en exceso)

Enz AC<sub>(p)</sub> - Ag<sub>TSH</sub> - Bn AC<sub>(m)</sub> = complejo sandwich Ag-Anticuerpo

K<sub>a</sub> = Tasa Constante de Asociación

K<sub>-a</sub> = Tasa Constante de Disociación

Simultáneamente, el complejo es depositado en el pozo a través de la mayor reacción de afinidad de la streptavidina y el anticuerpo con biotina. Esta reacción es ilustrada a continuación:



Streptavidina<sub>CW</sub> = Streptavidina inmovilizada en el pozo

Complejo Inmovilizado = Complejo sándwich unido al pozo

Después que el equilibrio se mantiene, la fracción unida al anticuerpo es separada del antígeno no unido por decantación o aspiración. La actividad de la enzima en la fracción unida al anticuerpo es directamente proporcional a la concentración nativa del antígeno. Para utilizar varias referencias séricas diferentes de valores de antígenos conocidos, una curva dosis respuesta puede ser generada en la cual la concentración del antígeno de un desconocido puede ser acertada.

**4.0 REACTIVOS**

**Reactivos para dos microplacas de 96 pozos; suministrado**

**A. Calibrador tiroideo Combi-Cal™ - 1 ml/vial- Iconos A-F**  
6 viales de calibradores de suero humano tiroideo Combi-Cal, dispensado en viales con concentraciones como se listan en la tabla: Almacenar de 2 a 8°C. Un preservante ha sido adicionado.

Analito	T3 (ng/ml)	T4 (µg/dl)	TSH (µIU/ml)
A	0	0	0
B	0.5	2.0	0.5
C	1.0	5.0	2.5
D	2.5	10.0	10.0
E	5.0	15.0	20.0
F	7.5	25.0	40.0

**B. Reactivo de Enzima- T4- 1 ml/vial – icono E**  
Un (1) vial de conjugado de peroxidasa de rábano picante (HRP)- Tiroxina, en una matriz albumina bovina-estabilizante.

**C. Reactivo de Enzima- T3- 1 ml/vial – icono E**  
Un (1) vial de conjugado de peroxidasa de rábano picante (HRP)- Triyodotironina, en una matriz albumina bovina-estabilizante. Almacenar de 2-8°C

**SCR**

**D. Tampón S-T3/T4 – 13 ml – Icono E**  
Un (1) botella de reactivo que contiene buffer, agente tampón, preservante e inhibidores de unión a proteínas. Almacenar a 2-8 °C.

**E. Reactivo de Enzima- TSH- 20 ml/vial – icono**  
Un (1) vial que contiene enzima marcada con afinidad a un anticuerpo de cabra policlonal purificado, una IgG de ratón monoclonal con biotina en buffer, secado y preservado. Almacenaje de 2-8°C.

**F. Reactivo de Anti T4-biotina- 7 ml/vial – icono V**  
Un (1) vial de reactivo anti-tiroxina con biotina (oveja) en una matriz de proteína-estabilizada, se ha agregado un conservante. Almacenar de 2-8 °C

**G. Reactivo de Anti T3-biotina- 7 ml/vial – icono V**  
Un (1) vial de reactivo anti-triyodotironina con biotina (oveja) en una matriz de proteína estabilizante. Se ha agregado un conservante. Almacenar de 2-8°C

**H. Microplaca cubierta con estreptavidina – 2x96 pozos ↓ Icono**  
Dos (2) microplacas de 96 pozos cubiertas con estreptavidina y empacadas en una bolsa de aluminio con un agente secante. Almacenar de 2 a 8°C

**I. Solución de Lavado Concentrada - 20 ml – Icono**  
Un vial que contiene un surfactante en suero salino tamponado. Un preservante ha sido adicionado. Almacenar a 2-30°C.

**J. Sustrato A – 2x7 ml/vial- Icono S<sup>A</sup>**  
Dos (2) viales que contienen tetrametilbenzidina (TMB) en buffer. Almacenaje a 2-8°C.

**K. Sustrato B – 2x7 ml/vial – Icono S<sup>B</sup>**  
Dos (2) viales que contienen peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en buffer. Almacenaje a 2-8°C.

**L. Solución de parada – 2x8ml/vial – Icono STOP**  
Dos (2) Viales que contienen un ácido fuerte (HCl 1N). Almacenaje a 2-8°C.

**M. Instrucciones de uso**

**Nota 1:** Las concentraciones de TSH fueron calibradas usando una preparación de referencia, la cual fue analizada contra el 80/558 IRP WHO 2<sup>nd</sup>

**Nota 2:** No usar reactivos más allá de la fecha de expiración

**Nota 3:** Evitar la exposición prolongada al calor y la luz. **Los reactivos abiertos son estables por 60 días cuando son almacenados de 2-8°C. La estabilidad del kit y los componentes son identificados en la etiqueta.**

**4.1 Requeridos pero no proporcionados:**

- Pipeta de 25µl y 50µl con una precisión superior al 1.5%
- Dispensador(es) para las distribuciones repetidas de 0.100ml y 0.300ml con una precisión superior al 1.5%.
- Dispensador de volumen ajustable a (20-200µl) y (200-1000µl) para dilución de conjugado y sustrato.
- Lavador de microplaca o una botella de lavado (opcional).
- Lector de microplaca con capacidad de absorbancia de 450nm a 620nm.
- Tubos de prueba para dilución de conjugado de enzima y sustrato A y B.
- Papel absorbente para secar los pozos de la microplaca.
- Cubierta plástica o de microplaca para los pasos de incubación.
- Aspirador al vacío (opcional) para los pasos del lavado.
- Cronómetro
- Materiales de control de calidad

**5.0 PRECAUCIONES**

**Para el uso Diagnóstico in Vitro**

**No para el Uso Interno ni Externo en Humanos o Animales**  
Todos los productos que contienen suero humano se encuentran no reactivos para el Antígeno de Superficie de la Hepatitis B, VIH 1 y 2 y anticuerpos para VHC mediante pruebas requeridas por la FDA. Incluso no se ha conocido prueba que pueda ofrecer la seguridad de que los agentes infecciosos estén ausentes, todos los productos séricos de humanos deben ser manipulados como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir enfermedades. Los procedimientos de laboratorio para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Centro de Control de Enfermedades/ Instituto Nacional de Salud, "Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", 2da Edición, 1988, HHS Publicación Nº (CDC) 88-8395.

**La eliminación adecuada de los componentes del kit debe ser acorde con los requerimientos estatutarios y de regulación.**

**6.0 PREPARACION Y RECOLECCION DE LA MUESTRA**

Para las muestras de suero o sangre se deben observar las precauciones de recolección de muestras por punción venosa. Para una comparación exacta para establecer valores normales, se debe obtener una muestra de suero en ayunas. La sangre será recogida en un tubo de punción venosa sin aditivos de tapa roja o anticoagulantes (para suero) o tubos al vacío que contiene EDTA o heparina para plasma. Permitir que la sangre coagule para las muestras de suero. Centrifugar la muestra para separar el suero o plasma de las células.

Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8°C por un período máximo de 5 días. Si la muestra no puede ser analizada dentro de este tiempo, debe ser almacenada a temperatura de -20°C por hasta 30 días. Evite los ciclos de congelamiento y descongelamiento. Cuando ensayamos en duplicado, se requieren 0.05ml muestra para tT4 y 0.10ml para tT3 y TSH.

## 7.0 CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio ensayará los controles a niveles en el rango del hipotiroideo, eutiroideo e hipertiroideo para el monitoreo del rendimiento del ensayo. Estos controles serán tratados como desconocidos y los valores deben determinarse en cada procedimiento de prueba realizado. Las gráficas de control de calidad se deben mantener para seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Los métodos estadísticos pertinentes serán empleados para verificar las tendencias. Los laboratorios en particular deberán establecer límites aceptables de desempeño de los ensayos. Adicionalmente, la absorbancia máxima deberá ser consistente con lo registrado anteriormente. Una desviación significativa a partir de los datos establecidos de desempeño puede indicar que hay cambios no perceptibles en condiciones experimentales o hay degradación de los reactivos del kit. Los reactivos frescos deben usarse para determinar la razón para las variaciones.

## 8.0 PREPARACION DE LOS REACTIVOS

### 1. Reactivo de Trabajo A= Solución de Conjugado de enzima- tT3 o tT4

Diluir el conjugado de enzima tT4 o tT3 1:11 con el buffer del conjugado T3/T4 total en un contenedor adecuado. Por ejemplo, diluir 80µl de conjugado con 0.8 ml de buffer para 16 pozos (un pequeño exceso de solución es preparada). Este reactivo será usado dentro de las 24 horas para el rendimiento máximo del ensayo. Almacenar de 2-8°C.

#### Fórmula General:

Cantidad de Buffer requerido = Número de pozos \* 0.05  
 Cantidad de enzima T4 necesaria = # de pozos \* 0.005  
 Por ejemplo = 16 x 0.05 = 0.8 ml para el buffer del conjugado T3/T4 total  
 16 x 0.005 = 0.08 ml (80µl) para el conjugado de enzima T4 o (tT3).

### 2. Buffer para Lavado

Diluir los contenidos del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada o desionizada en un contenedor de adecuado. Almacenar a temperatura ambiente de 2-30°C hasta 60 días.

### 3. Solución de Substrato de Trabajo

Vierta los contenidos de los viales de solución marcada con "A" dentro de la solución marcada con "B". Mezclar y almacenar a 2-8°C. Usar dentro de 60 días. O para los períodos largos de uso determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar para mezclar en iguales proporciones del Substrato A y Substrato B en un contenedor adecuado. Por ejemplo, adicionar 1 ml de A y 1 ml de B por 2 tiras para 8 pozos (Un ligero exceso de la solución es preparada. Descartar la porción no usada).

**Nota: No usar el substrato de trabajo si se ve azul.**

**Nota 2: No use reactivos que estén contaminados o que tengan crecimiento bacteriano.**

## 9.0 PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Antes de proceder con el ensayo, permita que todos los reactivos, sueros de referencia y controles alcancen temperatura ambiente (20 a 27°C).

**"La prueba puede ser procesada por personal experto o por un profesional entrenado"**

1. Marcar los pozos de la microplaca para cada suero calibrador, control y muestra del paciente para que sean analizados por duplicado. **Devolver a la bolsa de aluminio, cualquier tira del micropozo sin usar. Sellarlo y almacenarlo de 2-8°C.**
2. Pipetear 0.025 ml (25µl) del suero de referencia, control o muestra dentro del pozo asignado para tT4. **Pipetear 0.050ml (50µl) para tT3. Pipetear 0.050ml (50µl) para TSH.**
3. Adicionar 0.050ml (50µl) de Reactivo de trabajo A, solución conjugado de enzima tT3 o tT4 a los pozos correspondientes (Ver la sección preparación de reactivos). **Para TSH, adicione 0.100 del reactivo de enzima del TSH y salte los pasos 4 y 5.**
4. Revolver la microplaca ligeramente por 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Agregue 0.050ml (50µl) de solución del conjugado anticuerpo-tT3 o tT4 con biotina a los pozos asignados.
6. Agitar la microplaca ligeramente por 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
7. Incubar 60 minutos a temperatura ambiente.
8. Descartar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración, si decanta secar la placa con papel absorbente.
9. Adicionar 300µl de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos), decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 2 veces adicionales para un total de 3 lavados. **Un lavador de placa automático o manual puede ser usado. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si la botella de lavado es empleado, llenar cada pozo presionando el recipiente para evitar las burbujas de aire, para dispensar el lavado. Decantar el lavado y repetir 2 veces adicionales.**
10. Adicionar 0.100 ml (100µl) de solución de substrato de trabajo a todos los pozos (Ver Sección de Preparación del Reactivo). **Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.**

## NO AGITAR LA MICROPLACA DESPUES ADICIONAR EL SUSTRATO

11. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
12. Adicionar 0.050 ml (50µl) de solución de parada a cada pozo y mezclar ligeramente (por 15-20 segundos). **Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción en los pozos.**
13. Leer la absorbancia en cada pozo de cada pozo a 450 nm (usando una longitud de referencia de 620-630 nm para minimizar las imperfecciones del pozo) en un lector de microplaca. **Los resultados serán leídos dentro de los 30 minutos de adicionar la solución de paralización.**

**Nota:** Para analizar nuevamente las muestras con concentraciones superiores al calibrador más alto, diluya 12.5µl (tT4) o 25µl (tT3-TSH) de la muestra y 12.5µl (tT4) o 25µl (tT3-TSH) del suero de referencia 0 dentro del pozo de la muestra (esto mantiene una concentración uniforme de la proteína). Multiplicar el valor leído por 2 y obtener la concentración de tiroxina.

## 10.0 RESULTADOS

Una curva dosis respuesta es usada para establecer la concentración de cada hormona correspondiente en muestras desconocidas.

1. Registrar la absorbancia obtenida del listado del lector de microplacas como se explica en el Ejemplo 1-tT4, Ejemplo 2-tT3 o Ejemplo 3- TSH.
2. Trazar la absorbancia para cada duplicado del suero de referencia versus la concentración correspondiente tT4 en µg/ dl, (tT3 en ng/ml-TSH en µU/ml) en el papel de gráfica lineal (no promediar los duplicados de las referencias del suero antes de graficar).
3. Trace la mejor curva a través de los puntos dibujados (figura1-3).
4. Determinar la concentración de tT4 (tT3-TSH) para un valor desconocido, ubicar el promedio de la absorbancia de los duplicados para cada valor desconocido en el eje vertical del gráfico, encontrar el punto de intersección sobre la curva y leyendo la concentración en µg/ dl para tT4, (tT3 en ng/ml-TSH en µU/ml) del eje horizontal del gráfico (los duplicados del valor desconocido puede ser promediados como se indica). En el siguiente Ejemplo el promedio de absorbancia 0.963(intercepta la curva del calibrador a la concentración del tT4 (7.3 µg/dl) (ver figura 1)

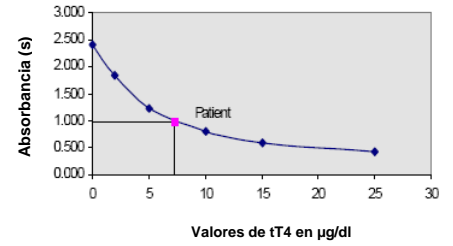
**NOTA 1:** El software reducción de datos de computadoras diseñadas para (ELISA) también puede ser utilizados para la reducción de datos. **Si tal software es utilizado, la variación del software debe ser comprobada.**

Los datos presentados en Ejemplo 1-3 y Figura 1-3 son para ilustrar solamente y no deben ser usados en lugar de la curva de calibración preparada con cada ensayo

### EJEMPLO 1-tT4

ID MUESTRA I.D.	POZO No.	Abs (A)	MEDIA Abs (B)	VALOR (µg/dl)
Cal A	A1	2.451	2.419	0
	B1	2.387		
Cal B	C1	1.845	1.839	2
	D1	1.832		
Cal C	E1	1.229	1.221	5
	F1	1.213		
Cal D	G1	0.811	0.795	10
	H1	0.779		
Cal E	A2	0.582	0.581	15
	B2	0.580		
Cal F	C2	0.440	0.419	25
	D2	0.398		
PACIENTE	H2	0.750	0.963	7.3
	A3	0.960		
	B3	0.965		

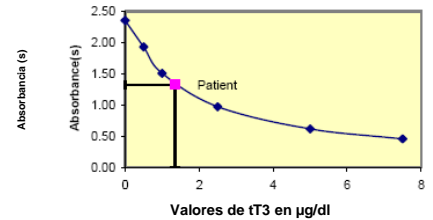
FIGURA 1



EJEMPLO 2- tT3

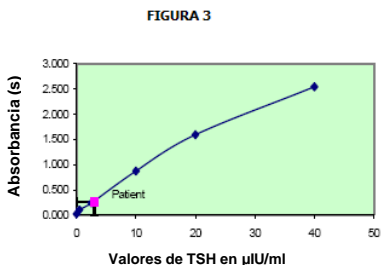
ID MUESTRA	POZO No	Abs (A)	MEDIA Abs (B)	VALOR (ng/ml)
Cal A	A1	2.302	2.352	0
	B1	2.401		
Cal B	C1	1.978	1.930	0.5
	D1	1.930		
Cal C	E1	1.551	1.507	1.0
	F1	1.462		
Cal D	G1	0.972	0.972	2.5
	H1	0.966		
Cal E	A2	0.634	0.619	5.0
	B2	0.604		
Cal F	C2	0.465	0.455	7.5
	D2	0.447		
PACIENTE	H2	0.931	1.328	1.35
	A3	1.305		
	B3	1.350		

FIGURA 2



EJEMPLO 3-TSH

ID MUESTRA	POZO No	Abs (A)	MEDIA Abs (B)	VALOR (µU/ml)
Cal A	A1	0.020	0.021	0
	B1	0.022		
Cal B	C1	0.114	0.103	0.5
	D1	0.092		
Cal C	E1	0.246	0.238	2.5
	F1	0.231		
Cal D	G1	0.904	0.872	10
	H1	0.839		
Cal E	A2	1.650	1.591	20
	B2	1.533		
Cal F	C2	2.648	2.547	40
	D2	2.445		
PACIENTE	H2	0.535	0.265	3.0
	A3	0.266		
	B3	0.263		



### 11.0 PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD

Con el fin de que los resultados del ensayo sean considerados válidos deben reunir los siguientes criterios:

1. La absorbancia (OD) del calibrador A para tT3-tT4 y del calibrador F para TSH deberá ser  $\geq 1$ .
2. 4 de 6 pools de control de calidad deberán estar ubicados dentro de los rangos establecidos.

### 12.0 ANALISIS DE RIESGOS

El MSDS y Forma de Análisis de Riesgo para este producto está disponible en la solicitud de Monobind Inc.

#### 12.1 Desempeño de la prueba

1. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea sostenido en forma constante para resultados reproducibles.
2. El pipeteo de las muestras no se extenderá más de 10 minutos para evitar derivaciones.
3. No se deben emplear muestras altamente lipémicas, hemolizadas o contaminadas.
4. Si más de 1 placa es usada, se recomienda repetir la curva dosis respuesta.
5. La adición de la solución sustrato inicia una reacción cinética, la cual es terminada por la adición de la solución de parada. Por tanto, la adición de los sustratos y la solución de parada deben ser en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación durante la reacción.
6. Los lectores de placa miden verticalmente. No tocar el fondo de los pozos.
7. La falla en remover la solución adherente adecuadamente en los pasos de aspiración o lavado por decantación puede resultar en una pobre replicación y resultados falsos.
8. Usar componentes del mismo lote. No mezclar los reactivos de diferentes lotes.
9. Las muestras de pacientes con concentraciones mayores al calibrador más alto deben diluirse; diluir 12.5µl (tT4) o 25µl (tT3-TSH) de la muestra y 12.5µl (tT4) o 25µl (tT3-TSH) del suero de referencia 0 dentro de cada pozo de la muestra (esto mantiene una concentración uniforme de la proteína). Multiplicar los valores de la lectura por 2 para obtener la concentración.
10. Es esencial un pipeteo preciso y exacto así como seguir el tiempo exacto y la temperatura requerida. Cualquier desviación de las instrucciones de uso puede arrojar resultados inexactos.
11. Se deben seguir las buenas prácticas de laboratorio, todos los estándares nacionales aplicables, regulaciones y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.
12. Es importante calibrar todos los equipos, por ejemplo: pipetas, lectores, lavadores y/o instrumentos automatizados con este reactivo y realizar un mantenimiento preventivo rutinario.
13. El análisis de riesgo – como lo requiere la directiva IVD 98/79/EC de la marca CE- para estos y otros dispositivos elaborados por Monobind, pueden ser solicitados vía Email: [Monobind@monobind.com](mailto:Monobind@monobind.com)

#### 12.2 Interpretación

1. **Medidas e interpretación de resultados deben ser procesadas por personal capacitado o profesionales entrenados.**
2. Los resultados de laboratorio por si solos son únicamente un aspecto para determinar el cuidado del paciente y no deben ser la única base para una terapia, particularmente si los resultados están en conflicto con otros determinantes.
3. Para validar los resultados de las pruebas, los controles y otros parámetros deben estar dentro de los rangos listados y requerimientos del ensayo.
4. Si los kits de prueba están alterados, ya sea por mezcla de partes de diferente kits, lo cual puede producir resultados de prueba falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente, **Monobind no tendrá responsabilidad.**
5. Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por Computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los calibradores se ubiquen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
6. La concentración sérica total de tiroxina depende varios factores: la función de la glándula tiroidea y su regulación, la concentración TBG, y la unión de tiroxina a TBG. Por lo tanto la concentración total de tiroxina sola no es suficiente para evaluar el estado clínico.
7. Los valores de tiroxina de sérica total pueden elevarse en condiciones tales como embarazo o administración de anticonceptivos orales. Se debe realizar de tT3 uptake para estimar la concentración relativa de TBG con el fin

determinar si la elevación tT4 es causada por variaciones de TBG.

8. Una disminución de tiroxina total es encontrado en enfermedades con eliminación de proteínas, ciertas enfermedades de hígado y administración de testosterona, difenilhidantoina o salicilatos. Una tabla de drogas interferente y condiciones, las cuales afectan los valores de tiroxina total han sido recolectadas por el Journal de la Asociación Americana de Química Clínica.

**"NO ESTA DISEÑADA PARA TAMIZAJE DE RECIEN NACIDOS"**

### 13.0 RANGOS ESPERADOS DE VALORES

Se realizó un estudio en una población de adultos eutiroideos para determinar los valores. En la tabla 1 se presenta valores de la media (R), desviaciones estándar (σ) y rangos esperados (±2 σ), presentados en la Tabla 1 para tT4 y en la Tabla 2 tT3. Un método no paramétrico (porcentaje estimado 95%) fue usado para TSH en Tabla 3.

**TABLA 1**  
Valores Esperados – (tT4)  
(En µg/dl)

	Masculino	Femenino*
Media (x)	7.6	8.2
Desviación estándar (σ)	1.6	1.7
Rangos esperados (±2σ)	4.4 -10.8	4.8-11.6
Numero	42	58

\*Pacientes normales con niveles deTBG alta no fueron excluidos excepto si estaban en embarazo.

**TABLA 2**  
Valores Esperados – (tT3)  
(En ng/ml)

Media (x)	1.250
Desviación estándar (σ)	0.375
Rangos esperados (±2σ)	0.50-2.00
Numero	105

**TABLA 3**  
Valores Esperados – (TSH)  
(En µIU/ml)

Numero	139
Rango normal bajo	0.39
Rango normal alto	6.16
70% de intervalos de confianza de 2.5 percentile.	
Rango bajo	0.28-0.53.
Rango alto	5.60-6.82

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de un rango de valores que puedan ser esperados mediante un método determinado para una población de personas "normales" depende de una multiplicidad de factores: la especificidad del método, la población analizada y la precisión del método usado por el analista. Por estas razones, cada laboratorio dependerá del rango de valores establecidos por el fabricante, sólo hasta que se determine un rango propio utilizando el método con una población propia de la zona en la que esté situado el laboratorio.

### 14.0 CARACTERISTICAS DEL RENDIMIENTO

#### 14.1 Precisión

La precisión intra y entre ensayos del procedimiento tT4 (tT3) VAST™ AccuBind ELISA fue determinada por análisis en 3 diferentes niveles de suero de control. El número, valor promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada uno de estos sueros controles son presentados en la Tabla 4 y Tabla 5. La precisión para TSH se muestra en las tablas 6 y 7.

**TABLA 4**  
Precisión Intra Ensayo

Muestra	N	X	σ	C.V.
Bajo	16	3.1	0.21	6.7%
Normal	16	8.9	0.27	3.0%
alto	16	16.5	0.73	4.4%

valores de tT4 en µg/dl

**TABLA 5**  
Precisión entre ensayos

Muestra	N	X	σ	C.V.
Bajo	10	3.0	0.25	8.3%
Normal	10	8.7	0.32	3.7%
Alto	10	16.3	0.69	4.2%

\*Medido em 10 experimentos por duplicado durante un período de 10 días.

**TABLA 6**  
Precisión Intra Ensayo

Muestra	N	X	σ	C.V.
Bajo	16	0.78	0.06	7.9%
Normal	16	1.92	0.10	5.4%
Alto	16	23.55	0.14	3.9%

Valores de tT3 en ng/ml

**TABLA 7**  
Precisión entre Ensayos

Muestra	N	X	σ	C.V.
Bajo	10	0.76	0.07	8.9%
Normal	10	1.85	0.13	6.7%
Alto	10	3.43	0.16	4.5%

\*Medido em 10 experimentos por duplicado durante 7 días.

**TABLA 8**  
Precisión Intra Ensayos

Muestra	N	X	σ	C.V.
Pool 1	24	0.37	0.03	8.1%
Pool 2	24	6.75	0.43	6.4%
Pool 3	24	29.30	1.94	6.6%

Valores de TSH en µIU/ml

**TABLA 9**  
Precisión entre ensayos

Muestra	N	X	σ	C.V.
Pool 1	10	0.43	0.04	9.3%
Pool 2	10	6.80	0.54	7.9%
Pool 3	10	28.40	1.67	5.9%

\*Medido em 10 experimentos por duplicado durante 7 días.

#### 14.2 Sensibilidad

El procedimiento tT4 tiene una sensibilidad de 100pg. Es equivalente a una muestra de concentración 0.4 µg/dl. La sensibilidad fue establecida determinando la variedad del suero calibrador 0 µg/dl y usando 2 desviaciones estándar (95% de certeza) estadísticas para calcular la dosis mínima.

El procedimiento tT3 tiene una sensibilidad de 0.04ng/ml. La sensibilidad fue establecida determinando la variedad del suero calibrador 0 ng/ml y usando 2 desviaciones estándar (95% de certeza) estadísticas para calcular la dosis mínima

La sensibilidad (límite de detección) TSH fue establecida determinando la variedad del suero calibrador 0µIU/ml y usando 2 desviaciones estándar (95% de certeza) estadísticas para calcular la dosis mínima: Para una hora de incubación = 0.078µIU/ml

#### 14.3 Exactitud

La prueba tT4, tT3 y TSH VAST™ AccuBind ELISA fueron comparados con métodos inmunométricos de referencia. La última ecuación de regresión cuadrada y el coeficiente de correlación fueron computados para las ELISAs en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos son descritos en las Tabla 8-10.

**TABLA 10 (tT4)**

Método	Media (X)	Análisis de Regresión min cuadrados	Coefficiente de Correlación
Este Método	8.07	$y = 0.39+0.952(x)$	0.934
Referencia	8.06		
Rango de valores	0.8-25	Numero: 131	

**TABLA 11 (tT3)**

Método	Media (X)	Análisis de Regresión min cuadrados	Coefficiente de Correlación
Este Método	1.62	$y = 3.8+0.947(x)$	0.987
Referencia	1.68		
Rango de valores	0.15-8.0	Numero: 120	

**TABLA 12 (TSH)**

Método	Media (X)	Análisis de Regresión min cuadrados	Coefficiente de Correlación
Este Método	4.54	$y = 0.47+0.968(x)$	0.995
Referencia	4.21		
Rango de valores	0.1-61.	Numero: 241	

Solamente pequeñas cantidades de pruebas entre este método y el método de referencia son indicadas por la proximidad de los valores promedios. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación indican excelente correlación del método.

#### 14.4 Especificidad

La evaluación de la reactividad cruzada de los anticuerpos usados para seleccionar las sustancias se llevó a cabo adicionando la sustancia interferente al suero matriz en varias concentraciones. La reactividad cruzada fue calculada por la derivación de un radio entre la dosis de la sustancia que interfiere a la dosis de hormona tiroidea necesaria para desplazar la mismas cantidad de trazador.

**TABLA 13 - tT4**

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
I-Tiroxina	1.0000	--
D-Tiroxina	0.9800	10µg/dl
D-Triyodotironina	0.0150	100µg/dl
I-Triyodotironina	0.0300	100µg/dl
Yodotirosina	0.0001	100µg/ml
Diyodotirosina	0.0001	100µg/ml
Diyodotironina	0.0001	100µg/ml

**TABLA 14 - tT3**

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
I-Triyodotironina	1.0000	--
I-Tiroxina	<0.0002	10µg/ml
Yodotirosina	<0.0001	10µg/ml
Yodotirosina	<0.0001	10µg/ml
Diyodotirosina	<0.0001	10µg/ml
Diyodotironina	<0.0001	10µg/ml
Fenilbutazona	<0.0001	10µg/ml
Salicilato de sodio	<0.0001	10µg/ml

**TABLA 15 - TSH**

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
Tirotropina (hTSH)	1.0000	--
Folitropina (hFSH)	<0.0001	1000ng/ml
Hormona Luteinizante (hLH)	<0.0001	1000ng/ml
Gonadotropina coriónica (hCG)	<0.0001	1000ng/ml

**15.0 REFERENCIAS**

1. Barker, SB, "Determination of Protein Bound Iodine." *Journal Biological Chemistry*, 173, 175 (1948).
2. Chopra, I.J., Solomon, D.H., an Ho, R.S., "A Radioimmunoassay of Thyroxine." *J. Clinical Endocrinol*, 33, 865 (1971).
3. Young, D.S., Pestaner, L.C., and Gilberman, U., "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests." *Clinical Chemistry*, 21, 3660 (1975).
4. Sterling, L., *Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease*, Cleveland CRC Press, P. 19-51 (1975).
5. Rae P, Farrar J, Beckett G, Toft A, "Assessment of thyroid status in elderly people." *British Med. Jour* 1993;307:177-180.
6. Charkes ND, "The many causes of subclinical hyperthyroidism." *Thyroid* 1996;6:391-396.
7. Chou FF, Wang PW, Huang SC, 'results of Subtotal Thyroidectomy for Graves' disease.' *Thyroid*;9:253-256.
8. Muzzaffari EL, Gharib H, "Thyroxine suppressive therapy in patients with nodular thyroid disease." *Ann Intern Med* 1998;128:386-394.
9. Attwood EC, Seddon RM, Probert DE: "The T4/TBG ratio and the investigation of thyroid function." *Clin Biochem* 1978;11:218.
10. Jain R, Isaac RM, Gottschalk ME et al: "Transient central hypothyroidism as a cause of failure to thrive in newborns and infants." *J. Endocrinology Invest.* 1994;17:631-637.

Revisión 3      Fecha: 092011      DCO 0540

Cat# 8025-300

Tamaño	192(B)
A)	1ml set
B)	1 (1ml)
C)	1 (1ml)
D)	1 (13ml)
E)	1 (20ml)
F)	1 (7ml)
G)	1 (7ml)
H)	2 placas
I)	1 (20ml)
J)	2 (7ml)
K)	2 (7ml)
L)	2 (8ml)

Para Órdenes y Consultas, por favor contáctese



Tel: 949-951-2665  
 Fax: 949-951-3539  
 Email: info@monobind.com  
 On the Web: [www.monobind.com](http://www.monobind.com)

Por favor visite nuestra página web para conocer más acerca de nuestros interesantes productos y servicios



EC REP      CEpartner4U, 3951 DB; 13.NL  
 Tel: +31 (0) 6-516.536.26