

FT4
Free Thyroxine (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de tiroxina libre (FT4) en suero o plasma

Significación clínica

La hormona tiroidea es el producto que secreta la glándula tiroidea. La mayor parte (> 99%) de las hormonas tiroideas del suero está fijada a las proteínas. Únicamente del 0,2 al 0,4% de T3 y T4 total está presente en solución de forma libre o sin fijar. Se considera que la fracción libre de tiroxina (T4) circulante influye en el metabolismo humano y la concentración de FT4 es independiente de la concentración de proteínas transportadoras de hormonas tiroideas. Por tanto, la concentración de T4 libre puede ser el mejor indicador de disfunción tiroidea. Una concentración normal de T4 libre y una concentración elevada de T3 dará lugar a hipertiroidismo.

Fundamentos del método

Free Thyroxine (CLIA) es un ensayo inmunoenzimático competitivo para determinar el nivel de T4 libre en suero o plasma.

En el primer paso se agregan a la cubeta de reacción, la muestra y el conjugado de anti-T4-fosfatasa alcalina.

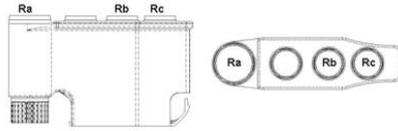
En el segundo paso, se añaden a la cubeta de reacción, micropartículas recubiertas de estreptavidina y T4 biotinilada. La FT4 de la muestra compite con la T4 biotinilada por el conjugado de anti-T4-fosfatasa alcalina. Los complejos anticuerpo-T4 biotinilada se fijan a las micropartículas recubiertas de estreptavidina. Las micropartículas se capturan magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante el lavado.

En el tercer paso se añade la solución de sustrato (Substrate Solution) a la cubeta de reacción. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades relativas de luz (RLU). La cantidad de T4 libre presente en la muestra es inversamente proporcional a las RLU generadas durante la reacción. La concentración de T4 libre se puede determinar mediante una curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina en buffer TRIS.
Rb	Conjugado de fosfatasa alcalina-anticuerpo monoclonal anti-T4 en buffer MES.
Rc	T4 biotinilada en buffer PBS

La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:



Reactivos no provistos

- Free T4 Calibrators
- Thyroid Function Multi Control (L)
- Thyroid Function Multi Control (H)
- Wash Buffer
- Substrate Solution

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No utilizar reactivos de otro origen.
- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series

Muestra

Suero o plasma

- a) **Recolección:** obtener la muestra de la manera habitual.
- b) **Aditivos:** en caso de utilizar plasma, se recomienda el uso de EDTA, heparina sódica o heparina de litio como anticoagulantes.
- c) Centrifugar las muestras y separar el suero o plasma antes de las dos horas.
- d) **Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** las muestras deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan dentro de las 8 horas posteriores a la recolección, deben conservarse bien tapadas y refrigeradas a 2-8°C. Si el ensayo se posterga por más de 72 horas, las muestras deben ser congeladas a -20°C o menos.

Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco.

El ensayo requiere 15 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Free Thyroxine (CLIA)** ha sido estandarizado contra un kit comercial de FT4 (CLIA).

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de FT4. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

Control de calidad

Thyroid Function Multi Control (L) y Thyroid Function Multi Control (H) de Wiener lab.

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran en ng/dL.

Factores de conversión:

$$\text{ng/dL} \times 12,872 = \text{pmol/L}$$

$$\text{pmol/L} \times 0,077688 = \text{ng/dL}$$

Valores esperados

En un estudio realizado sobre una población de 283 individuos sanos (139 hombres y 144 mujeres) se obtuvo el siguiente intervalo de referencia:

Categoría	N	Intervalo central del 95%
Hombre	139	0,5-1,4 ng/dL
Mujer	144	0,5-1,4 ng/dL
Total	283	0,5-1,4 ng/dL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitaciones del procedimiento

El límite superior del ensayo es de 6 ng/dL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de T4 libre inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como > 6 ng/dL.

La concentración de T4 libre en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc. Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Performance

a) **Sensibilidad analítica:** ≤0,3 ng/dL.

b) **Rango de medición:** 0,3 – 6,0 ng/dL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 10 mg/dL, triglicéridos hasta 1800 mg/dL ni proteínas totales hasta 10,0 g/dL.

- Se llevaron a cabo pruebas de interferencia con fármacos utilizados habitualmente. Estos compuestos mostraron una interferencia inferior al 10% en el ensayo de FT4 con los niveles indicados a continuación.

Compuesto	Concentración
Metimazol	0,4 mg/dL
Tiouracilo	5,0 mg/dL
Fenilbutazona	7,5 mg/dL

- El calibrador C0 de **Free T4 Calibrators** de Wiener lab. se complementó con análogos de T4 a niveles específicos indicados en la tabla siguiente. No se observó reactividad cruzada evidente. Los resultados se muestran en la tabla:

Sustancia	Concentración	Reactividad cruzada
T3 inversa	45,00 ng/dL	0,02%
Monoiodotirosina	7,20 ng/dL	0,14%
3,5 diiodotironina	500000 ng/dL	0,00%
Diiodo-L-tirosina	7,60 ng/dL	0,26%
T3	2000 ng/dL	0,00%

Ácido tetraiodotiroacético	25000 ng/dL	0,00%
----------------------------	-------------	-------

d) Exactitud:

Se utilizaron dos controles con valores definidos y trazables para comprobar la exactitud del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a ±10%. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	FT4 medida (ng/dL)	FT4 definida (ng/dL)	Desvío relativo
Nivel 1	2,10	2,03	3,45%
Nivel 2	2,93	2,92	0,34%

e) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

Muestra	Valor medio (ng/dL)	CV intra-ensayo	CV inter-ensayo	CV total
1	1,31	3,17%	1,58%	4,38%
2	2,57	2,05%	1,98%	4,64%

f) Correlación:

El kit **Free Thyroxine (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 519 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/dL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0,3-6,0	1,46	0,105	0,975

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001090)
- 2 x 100 tests (cód. 1001091)

Referencias

- Robbins J, Rall JE. Interaction of thyroid hormones and protein in biological fluid. Recent Prog Horm Res 1957;13:161-202.
- Robbins J, Rall JE. The iodine containing hormone. In Grady CH & Bacharach AL (eds), Hormones in Blood vol. 1. London: London Academic Press 1967:383-490.
- Christofides ND, Sheehan CP. Multicenter evaluation of enhanced chemiluminescence labeled-antibody immunoassay (Amerlite-MAB) for free thyroxine. Clin Chem 1995; 41:24-31.
- Lewis M. In Ekins R et al (eds),

Measurement of free thyroid hormones in health and disease. International Symposium on Free Thyroid Hormones, Venice. Excerpta Medica 1979; 167-180.

- Nelson JC, Wilcox RB. Analytical performance of free and total thyroxine assays. Clinical Chemistry 1996;42:1,146-154.

- Kaplan MM, Larsen PR, Crantz FR, Deau VJ, Rossing TH. Prevalence of Abnormal Thyroid Function Test Results in Patients with Acute Medical Illnesses. Am J Med 1982;72:9-16.

SÍMBOLOS

CE Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

Elaborado por

MD Uso diagnóstico "in vitro"

I Consultar instrucciones de uso

II Este lado arriba

L Límite de temperatura (conservar a)

LOT Número de lote

Fecha de caducidad

REF Número de catálogo

R Riesgo biológico

Cont. Contenido

SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com>
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-139
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica