

T3 Total Triiodothyronine (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de triiodotironina total (T3) en suero

Significación clínica

La 3,5,3' triiodotironina (T3) es una hormona tiroidea con un peso molecular de 651 dalton, su vida media en suero de 1,5 días. Es sintetizada y secretada por la glándula tiroidea. Únicamente del 0,2 al 0,4% de T3 y T4 total están presente de forma libre o sin fijar, ya que la mayoría se encuentra ligada a proteínas de suero y no puede impulsar la actividad biológica. La hormona tiroidea libre y fijada mantiene un equilibrio dinámico. Solo la hormona tiroidea libre está disponible para fijarse a su receptor y estimular una respuesta del órgano o los tejidos de destino. Solo una pequeña proporción de T3 total en suero es secretada directamente por la glándula tiroidea. La fracción restante de T3 total proviene de la monodesiodización enzimática de T4 a T3 realizada por los tejidos periféricos.

La determinación de T3 en suero puede ser un componente de gran valor en un panel de examen de tiroides para el diagnóstico de trastornos tiroideos. En algunos casos de enfermedad grave de la tiroides y con cronicidad, la concentración de T4 libre aumenta o disminuye con un nivel alto de TSH y un nivel bajo de T3. Una concentración normal de T4 libre y una concentración de T3 elevada dará lugar a hipertiroidismo. La disminución de la concentración de T3 se debe al hipotiroidismo primario o a casos de hipotiroidismo secundario causados por la insuficiencia del hipotálamo o la hipófisis, como es el caso de la tiroiditis de Hashimoto.

Fundamentos del método

Total Triiodothyronine (CLIA) es un ensayo inmunoenzimático competitivo para determinar el nivel de T3 total en suero.

En el primer paso se agregan a una cubeta de reacción: la muestra, el agente de extracción y el conjugado de anticuerpos anti-T3-fosfatasa alcalina. Luego de la incubación, el agente de extracción separa la T3 de su proteína transportadora.

En el segundo paso se añaden a la cubeta de reacción la micropartícula paramagnética recubierta de estreptavidina y T3 biotinilada. La T3 de la muestra compete con la T3 biotinilada por el conjugado de anti-T3-fosfatasa alcalina. Los complejos de anticuerpo-T3 biotinilada se fijan a las micropartículas recubiertas de estreptavidina. La micropartícula se captura magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante sucesivos lavados.

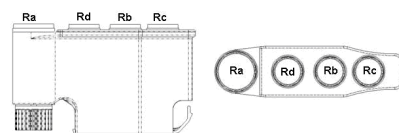
En el tercer paso se añade la solución de sustrato (Substrate Solution) a la cubeta de reacción. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades relativas de luz (RLU). La

cantidad de T3 total presente en la muestra es inversamente proporcional a las RLU generadas durante la reacción. La concentración de T3 total se puede determinar mediante una curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina en buffer HEPES.
Rb	Conjugado de fosfatasa alcalina-anticuerpo monoclonal anti-T3 en buffer MES.
Rc	T3 biotinilada en buffer PBS
Rd	Ácido 8-anilino-1-naftalenosulfónico (ANS) en buffer MES

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



Reactivos no provistos

- **Total T3 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

- a) Recolección:** obtener la muestra de la manera habitual.
 - b) Aditivos:** no se requieren.
 - c)** Centrifugar las muestras y separar el suero 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 20 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Total Triiodothyronine (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo al procedimiento de medición de referencia IDMS (Isotope Dilution Mass Spectrometry).

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 T3. 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/mL.

Factores de conversión:

ng/mL x 1,536 = nmol/L

nmol/L x 0,651 = ng/mL

Valores esperados

Se obtuvo un rango normal de 0,58 ng/ml a 1,62 ng/ml (intervalo central de un 95%) mediante pruebas de muestras séricas de 530 individuos que los ensayos Wiener lab. Thyroid-Stimulating Hormone (CLIA) y Free Thyroxine (CLIA) determinaron como normales. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, el cual puede ser exclusivo para la población en la que actúa en función de la zona geográfica, el paciente, la dieta o los factores ambientales..

Limitaciones del procedimiento

El límite superior del ensayo es de 8,0 ng/mL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de T3 total inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >8,0 ng/mL.

La concentración de T3 total 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: ≤0,2 ng/mL.

b) Rango de medición: 0,2 – 8,0 ng/mL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 10 mg/dL, triglicéridos hasta 1800 mg/dL, proteínas totales hasta 10 g/dL factor reumatoide hasta 200 UI/mL ni anticuerpo antinuclear hasta 1000 UI/L.

- Se llevaron a cabo pruebas de interferencia con fármacos utilizados habitualmente. Estos compuestos mostraron una interferencia inferior al 10% en el ensayo de T3 con los niveles indicados a continuación.

Compuesto	Concentración
Fenilbutazona	1000 ng/mL
Salicilato de sodio	1000 ng/mL
Metimazol	1,00 mg/dL
6-N-propil-2-tiouracilo	1000 ng/mL

- El calibrador C0 de **Total T3 Calibrators** de Wiener lab. se complementó con análogos de T3 a niveles específicos indicados en la tabla siguiente. No se observó reactividad cruzada evidente.

Sustancia	Concentración	Reactividad cruzada
3,5-L-diyodotironina	100 ng/mL	1,40%
T3 inversa	500 ng/mL	0,75%
Ácido tetrayodotiroacético	25 ng/mL	1,68%
L-tiroxina	100 ng/mL	0,03%
Monoiodotirosina	1000 ng/mL	0,00%
Diiodo-L-tirosina	1000 ng/mL	0,01%

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 $\pm 10\%$. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	T3 medida (ng/mL)	T3 definida (ng/mL)	Desvío relativo
Nivel 1	1,94	1,95	-0,51%
Nivel 2	3,95	3,72	6,18%

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/mL)	CV intra-ensayo	CV inter-ensayo	CV total
1	2,07	1,53%	1,70%	2,46%
2	4,17	1,44%	2,07%	2,58%

f) Linealidad: la reacción es lineal en el rango de 0,2 a 8,0 ng/mL

g) Correlación:

El kit **Total Triiodothyronine (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 463 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/mL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0,2~8,0	0.7362	0,3494	0,981

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001165)
- 2 x 100 tests (cód. 1001166)

Referencias

- Larsen PR. Triiodothyronine: Review of Recent Studies of Its Physiology and Pathophysiology in Man. Metabolism 1972; 21: 1073-1092.

- Klee GG. Clinical usage recommendations and analytic performance goals for total and free triiodothyronine measurements. Clinical Chemistry 1996;42:155-159.

- Fisher DA. Physiological variations in thyroid hormones; physiological and pathophysiological considerations. Clinical Chemistry 1996;42: 135-139.

- Ekins, R. Measurement of free hormones in blood. Endocrinol. rev., 1986; 11:5-46.

- Gornall AG, Luxton AW, Bhavnani BR. Endocrine disorders. In applied biochemistry of clinical disorders, 1986; 305-318. Edited by Gornall, AG Philadelphia, PA: J. B. Lippincott Co.

- White GH. Recent advances in routine thyroid function testing. CRC - Critical reviews in clinical laboratory Sciences, 1986; 24: 315-362.

- 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.

- Wahner HW, Gorman CA. Interpretation of Serum Tri-Iodothyronine Levels Measured by the Sterling Technic. N Engl J Med 1971; 2824: 225-230.

- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

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

ELAB Elaborado por

IVD Uso diagnóstico "in vitro"

UI Consultar instrucciones de uso

U Este lado arriba

T Límite de temperatura (conservar a)

LOT Número de lote

EXP Fecha de caducidad

REP Número de catálogo

B 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