

INTENCIÓN DE USO

El Kit Anti-TG está diseñado para la detección de anticuerpos IgG contra la Tiroglobulina en suero o plasma humano.

RESUMEN Y APLICACIÓN

La Tiroglobulina es una glicoproteína soluble en agua que está implicado en el almacenamiento y la síntesis de hormonas tiroideas. El antígeno microsomal de tiroides ha demostrado ser la enzima peroxidasa tiroidea (TPO). Los anticuerpos contra la Tiroglobulina y o antígeno microsomal están presentes en la mayoría de los pacientes con tiroiditis bocio (enfermedad de Hashimoto), tiroiditis atrófica y aproximadamente 70 a 90% de la enfermedad de Graves. Los anticuerpos también se encuentran en aproximadamente la mitad de los pacientes con hipotiroidismo y tirotoxicosis primaria, y el 10-20% de los pacientes con bocio simple y tumores de tiroides. También hay una relación entre los anticuerpos de tiroides y la diabetes mellitus. Autoanticuerpos tiroideos están presentes en aproximadamente el 6-7% de las normales y su incidencia aumenta con la edad. Básicamente, los anticuerpos contra antígenos de la tiroides son detectados por reacciones de precipitación, hemaglutinación y por inmunofluorescencia. Sin embargo, las pruebas son subjetivas y carecen de alta sensibilidad. Ensayos Inmunoenzimático (ELISA) combinan mayor sensibilidad, lectura objetiva y facilidad de uso. Elisas se han desarrollado y validado para la detección de autoanticuerpos contra antígenos de la tiroides.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Suero diluido del paciente se añade a los pocillos recubiertos con antígeno recombinante purificado TG. Si el anticuerpo específico TG está presente se une al antígeno. Todos los materiales no unidos son lavados y la enzima conjugada se añade para enlazarse con el complejo anticuerpo-antígeno, si está presente. El exceso de enzima conjugada se lava y se añade el sustrato. La placa se incuba para permitir la hidrólisis del sustrato por la enzima. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad de anticuerpos TG en la muestra.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Micropozos recubiertos con antígeno TG	12x8x1
2. Diluyente de la muestra	22 ml
3. Calibrador: 1 Vial (listo para usarse)	1.0 ml
4. Control Positivo: 1 vial (listo para usarse)	1.0 ml
5. Control Negativo: 1 vial (listo para usarse)	1.0 ml
6. Enzima conjugada	12 ml
7. Sustrato TMB	12 ml
8. Solución paro	12 ml
9. Solución de Lavador 20X	25 ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450 nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadriculado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2-8 °C.
2. Mantenga los pocillos sellados en una bolsa seca con desecantes.
3. Los reactivos son estables hasta el vencimiento del kit.
4. No exponga los reactivos al calor, sol o luz fuerte.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Materiales de potencial riesgo biológico:

1. El calibrador y los controles contienen componentes de fuente humana los cuales han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como de anticuerpos del HIV con reactivos con licencia FDA. Sin embargo no existe un método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus de HIV, Hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deben ser manejados en el nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda en los Centros de Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud Manual, "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
2. Este kit está diseñado para uso exclusivo en investigación.
3. Los resultados óptimos se obtienen mediante la estricta adhesión al protocolo de prueba. Un pipeteado preciso así como la hora exacta y los requisitos de temperatura es esencial.
4. No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas en las que las muestras o los reactivos del kit se manejan.
5. Los componentes de este kit están destinados para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben mezclarse.
6. Este producto contiene componentes preservados con ácido de sodio. El ácido sódico puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar acidas metálicas explosivas. Para su eliminación, lavar con un gran volumen de agua.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Recolecte sangre por venopunción. Separe el suero por centrifugación. EVITE AGREGAR ANTI-COAGULANTES A LA MUESTRA. En caso de no hacer el examen inmediatamente refrigere la muestra 2-8°C o congele.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Diluya la solución de lavado (20x) en 475 ml de agua destilada o desionizada, para llevarla a (1X).

Conserve a temperatura ambiente. Mezcle bien antes de usar.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Lleve todas las muestras y reactivos del kit a temperatura ambiente.

1. Coloque el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
2. Control negativo, control positivo y calibrador están listo para usar. Preparar una dilución 1:21 de muestras de ensayo, mediante la adición de 10 µl de la muestra a 200 µl de diluyente de la muestra. Mezclar bien.
3. Dispensar 100 µl de suero diluido, calibrador y controles en los pozos apropiados. Para el blanco de reactivo, dispense 100 µl de diluyente de la muestra. Toque el soporte para eliminar las burbujas de aire del líquido y mezcle bien. Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Retire el líquido de todos los pozos. Lave los pozos tres veces con 300 µl de solución de lavado 1X. Seque en papel absorbente o toalla de papel.
5. Dispensar 100 µl de enzima conjugada a cada pocillo e incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire la enzima conjugada de todos los pozos. Lave los pozos tres veces con 300 µl de solución de lavado a 1X. Seque en papel absorbente o toalla de papel.
7. Dispensar 100 µl de sustrato TMB y se incuba durante 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Añadir 100 µl de solución de paro.
9. Lea D.O. a 450 nm utilizando un lector de ELISA dentro de 15 minutos. Una doble longitud de onda se recomienda con filtro de referencia de 600-650nm.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Compruebe el valor del factor de calibración (CF) en la botella. Este valor puede variar de lote a lote. Asegúrese de comprobar el valor en cada kit.
2. Calcular corte de valor: Calibrador OD x Factor calibrador (CF).
3. Calcular el índice de Ab (anticuerpos) de cada determinación dividiendo los valores medios de cada muestra por el valor de corte.

EJEMPLO DE RESULTADOS TÍPICOS

Media del calibrador OD = 0,8
Factor calibrador (CF) = 0,5
Valor de corte = 0,8 X 0,5 = 0.400
Positivo O.D. de control = 1,2
Índice de Ab = 1,2 / 0,4 = 3
O.D. muestra del paciente = 1,6
Índice Ab = 1,6 / 0,4 = 4,0

CONTROL DE CALIDAD

La prueba de funcionamiento puede ser considerado válido siempre que se cumplan los siguientes requisitos:

1. La D.O. del calibrador debe ser superior a 0.250.
2. El índice de Ab para el control negativo debe ser inferior a 0.9.
3. El índice de Ab para el control positivo debe ser superior a 1.2.

INTERPRETACIÓN

La siguiente pretende ser una guía para la interpretación de los resultados de la prueba de anticuerpos de TG, se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios criterios para la interpretación de la prueba basado en muestras de población encontradas.

INTERPRETACIÓN DEL ÍNDICE DE ANTICUERPOS

<0,9 No anticuerpo TG detectable por ELISA.
0,9-1,1 límite positivo. Se recomienda un seguimiento de pruebas si está clínicamente indicado.
> 1,1 detectable de anticuerpos por ELISA TG.

Conversión del índice Ab a UI/ml.

Como una opción, el índice de TG se puede convertir en UI/ml multiplicando el valor del índice Ab por 100 unidades internacionales puede entonces ser interpretado de la siguiente manera:

> 100 UI/ml: Negativo
100-150 UI/ml: Límite positivo
> 150 UI/ml: Positivo

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El resultado de la prueba obtenida mediante este kit sólo sirve como ayuda en el diagnóstico y debe interpretarse en relación con la historia del paciente, los hallazgos físicos y otros procedimientos de diagnósticos.
2. Las muestras lipémicas o hemolizadas pueden causar resultados erróneos.

PERFORMANCE

1. Correlación con un kit ELISA de referencia:

121 sueros de pacientes fueron probados por esta ELISA y un método ELISA de referencia. 28 fueron positivos y 88 fueron negativos por ambos métodos (acuerdo 96%). Los resultados se resumen a continuación:

	TG Ab ELISA		
	+	-	Total
Kit Referencia ELISA	28	3	31
	2	88	90
Total	30	91	121

2. Precisión:

Intra Ensayo

Suero	N° de Réplicas	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
1	16	1.56	0.12	7.7
2	16	0.84	0.06	7.1
3	16	0.22	0.02	9.0

Inter Ensayo

Suero	N° de Réplicas	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
1	10	1.47	0.14	9.5
2	10	0.97	0.09	9.3
3	10	0.24	0.03	12.5

REFERENCIAS

1. Fan JL; Patibandla SA; Kimura S; Rao TN; Desai RK; Seetharamaiah GS; Kurosky A; Prabhakar. BS Purification and characterization of a recombinant human thyroid peroxidase expressed in insect cells. J Autoimmun 1996; 9(4):529-36.
2. Feldt-Rasmussen U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. Clin Chem 1996; 42:160-3.
3. Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G, Pinchera A. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. J Clin. Endocrinol Metab 1990; 71:661-9.
4. Roti E, Gardini E, Minelli R, Bianconi L, Braverman LE. Prevalence of anti-thyroid peroxidase antibodies in serum in the elderly: comparison with other tests for anti-thyroid antibodies. Clin Chem 1992; 38:88-92.