

INTENCIÓN DE USO

El kit Anti-TPO está diseñado para la detección de anticuerpos IgG contra la peroxidasa tiroidea en suero o plasma humano.

RESUMEN Y APLICACIÓN

La peroxidasa tiroidea (TPO) es el principal auto antígeno (residuo de ácido amino 933) en el antígeno microsomal tiroideo (TMA) de partículas. La purificación y preparación de este antígeno, ha hecho pruebas para anticuerpos TMA obsoletos. Los ensayos para anticuerpos TPO ELISA incluyen precipitación de radiomarcadores autoanticuerpos unidos-TPO con proteína A, la competencia para la unión a TPO anticuerpos monoclonales murinos anti-TPO inmovilizados, la captura de autoanticuerpos por perlas revestidas de TPO y quimioluminiscencia. Todas las pruebas se correlacionan bien con la detección de TMA ELISA utilizando antígeno recombinante. TPO es el ensayo más popular, la detección de anticuerpos TPO es fuerte evidencia en contra de un bocio o causas no autoinmunes de hipotiroidismo. El riesgo anual para el desarrollo de hipotiroidismo es de 3-4% si los anticuerpos TPO están presentes y la TSH se eleva. Anticuerpos TPO están presentes en 8.9% de los controles normales de 57-74% de los pacientes con enfermedades Graves, 99-100% de la enfermedad de Hashimoto o mixedema idiopático, 19% con cáncer diferenciado de tiroides, no hay pacientes con tiroiditis subaguda y 11% de los que tienen otra enfermedades de la tiroides no autoinmunes diversos. La prevalencia de anticuerpos TPO positivos es mayor en personas de edad avanzada (edad media 80 años) mujeres (10%) en comparación con los hombres de edad avanzada (2%). Concentración de autoanticuerpos en los centenarios también disminuye. Estudios de epitopos de TPO en cada dominio, A y B y la detección de sus autoanticuerpos específicos sugieren que el TPO epítipo específico anticuerpos relación (A / B) no cambia con el tiempo en los pacientes individuales y que TPO patrones de autoanticuerpos epítipo pueden ser heredadas.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Suero diluido del paciente se añade a los pocillos recubiertos con antígeno recombinante purificado TPO. Si el anticuerpo específico TPO IgG 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 anticuerpo IgG específico en la muestra.

MATERIALES PROPORCIONADOS	96 Pruebas
1. Micropozos recubiertos con TPO recombinante Ag	12x8x1
2. Diluyente de muestra	22 ml
3. Calibrador: 1 Vial (listo para usarse)	1 ml
4. Control Positivo: 1 vial (listo para usarse)	1 ml
5. Control Negativo: 1 vial (listo para usarse)	1 ml
6. Enzima conjugada	12 ml
7. Sustrato TMB	12 ml
8. Solución de paro	12 ml
9. Solución de Lavado 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 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrulado.

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.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Materiales de potencial riesgo biológico.
2. 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 tal como se recomienda en los Centros de Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud Manual. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
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 su uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben mezclarse.
6. Este producto contiene componentes preservados con ácido de sodio. Ácido de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre para formar acidas metálicas explosivas. Para su eliminación, lavar con un gran volumen de agua.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recoger muestras de sangre y separar el suero.
2. Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8 ° C durante un máximo de siete días o congelados por hasta seis meses. Evite el congelado y descongelado repetitivo de la muestra de suero.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Diluya la solución de lavado (20x) en 475ml. 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 a temperatura ambiente (18-26° C) y mezclar suavemente.

1. Coloque el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
2. Control negativo, control positivo y calibrador están listos 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. Golpee 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 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 = $0.8 \times 0.5 = 0.400$
Positivo O.D. de control = 1.2
Índice Ab = $1.2 / 0.4 = 3$
O.D. Muestra Paciente = 1.6
Índice Ab = $1.6 / 0.4 = 4.0$

CONTROL DE CALIDAD

La prueba puede ser considerada válida 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 TPO detectable por ELISA.
0,9-1,1 limite positivo. Se recomienda un seguimiento de pruebas si está clínicamente indicado.
> 1,1 detectable de anticuerpos TPO mediante ELISA.

La conversión de Ab Índice de UI / ml.

Como una opción, el índice de TPO Ab se puede convertir en UI / ml multiplicando el valor del índice Ab por 50.

Unidades internacionales pueden entonces ser interpretados de la siguiente manera:

<50 UI / ml: Negativo.
50-75 UI / ml: Limite positivo.
>75 UI / ml: Positivo.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Los resultados de las pruebas obtenidos con este kit sólo sirven como ayuda en el diagnóstico y deben 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:

134 sueros de pacientes fueron probados por este ELISA y un método ELISA de referencia. 39 fueron positivos y 92 fueron negativas por ambos métodos (acuerdo 98%). Los resultados se resumen a continuación.

	TPO IgG ELISA		
	+	-	Total
Referencia kit ELISA	39	1	40
	2	92	94
Total	41	93	134

2. Precisión:

Intra Ensayo

Suero	N° de Réplicas	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
1	16	1.75	0.1	5.7
2	16	0.92	0.07	7.6
3	16	0.19	0.02	10.5

Inter Ensayo

Suero	N° de Réplicas	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
1	10	2.12	0.17	8.0
2	10	1.05	0.09	8.6
3	10	0.21	0.03	14.2

REFERENCIAS

1. Fan JL, Patibandla SA; Kimura S; Rao TN, BS Purification and Characterization of recombinant human thyroid peroxidase expressed in insect cells.
2. Feldt-Rasmussen U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin.
3. Franke WG, Schimming C, Wunderlich G. Canthyroid peroxidase be used as a complementary tumor marker besides thyroglobulin.
4. Haapala AM Hy oty H Parkonen J; Soppi E Antibody reactivity against thyroid peroxidase and myeloperoxidase.
5. Mariotti S. Caturegi, Piccolo Barbesino G. Pinchera Anthyroid peroxidase antibodies in thyroid, diseases J Clin Endocrinol Metab. 1990.