

# Bio-T3 Captación

Ensayo inmunoenzimático por Quimioluminiscencia para la cuantificación de Triiodotironina de Captación en suero o plasma.

## INTENCIÓN DE USO

La prueba Bio-T3 Captación CLIA es utilizada para la medición de la cantidad total de la unión de sitios disponibles para las hormonas de tiroides en Suero o Plasma.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Los componentes requeridos para evaluar la capacidad de unión del suero/plasma humano son una enzima-T3 conjugada, tiroxina, proteína de enlace (P), y el anticuerpo inmovilizado de tiroxina (Ab). Sobre la mezcla de la enzima conjugada y la tiroxina con la muestra, aparece una línea de reacción entre la unión de las proteínas del paciente y la tiroxina la tiroxina agregada pero no con la enzima conjugada. La tiroxina (T4) agregada no se consume en la reacción 1 luego compete con el conjugado de enzima T3 por un número limitado de sitios de unión insolubilizados. Después el equilibrio es adquirido, la unión de la fracción del anticuerpo se desvincula del antígeno y la enzima por decantación o aspiración.

La actividad de la enzima, es determinada por la reacción con el sustrato que genera luz, en la fracción de la unión de la enzima conjugada con triiodotironina y es directamente proporcional a la capacidad de unión con la muestra. Por lo tanto, en hipotiroidismo, las proteínas vinculadas son relativamente insaturadas (debido al bajo nivel de hormonas tiroideas) resultando en un mayor consumo de las tiroxinas agregadas que en una muestra eutiroides.

Estas guías de alta unión de la enzima conjugada con triiodotironina es causada por la concentración reducida de la tiroxina disponible. En hipertiroidismo, lo contrario es la verdad. La unión de las proteínas es relativamente saturada (debido al alto nivel contenido la hormona tiroides) resultando en baja concentración de tiroxinas agregadas. La tiroxina restante es relativamente mucho más alta que en una muestra eutiroides resultando un bajo consumo de unión entre enzima-antígeno-anticuerpo debido a una mayor competencia de la tiroxina por los sitios de anticuerpos limitados.

MATERIALES SUMINISTRADOS	96 pruebas
1. Micropozos cubiertos con anticuerpo de oveja anti-tiroxina	12x8x1
2. Estándares de referencia (lista para usar).	1 ml
3. Indicador de enzima T3U: 1 vial (lista para usar).	1.5 ml
4. Buffer de captación T3: 1 botella.	13 ml
5. Reactivo de señal A: 1 vial	7 ml
6. Reactivo de señal B: 1 vial	7 ml
7. Concentrado de lavado 50X: 1 botellas	20ml

## MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Agua destilada y desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector ELISA capaz de leer absorbancias a 450 nm.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

## ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

1. Almacenar el kit de 2°C a 8°C.
2. Mantener los micropozos sellados en una bolsa seca con desecante.
3. Los reactivos se mantienen estables hasta su fecha de caducidad.
4. No exponga los reactivos de la prueba al calor, sol o luz fuerte.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Materiales Biopeligrosos potenciales:  
El calibrador y controles contienen componentes de fuentes humanas, cada uno ha sido probado y se encontró no-reactivo para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como para el anticuerpo del VIH con reactivos autorizados por la FDA. Sin embargo no existe ningún método de prueba que pueda ofrecer una garantía completa de la ausencia del VIH, el virus de la hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deberán ser manejados con un nivel 2 de bioseguridad, según la recomendación del Centro de Control de Enfermedades/ Manual de Institutos Nacionales de la Salud, "Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos".

2. Este kit es diseñado para el uso único de investigación.
3. Para óptimos resultados se debe mantener bajo estricta adherencia el protocolo de la prueba. Un pipeteo preciso es esencial, así como la toma del tiempo exacto y los requerimientos de temperatura necesarios.
4. No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas de muestreo o el kit de reactivos son manejados.
5. No usar muestras extremadamente lipémicas.

## COLECTA Y MANEJO DE LA MUESTRA

1. Colectar una muestra de sangre y separar el suero/plasma inmediatamente.
2. Las muestras pueden ser almacenadas en un refrigerador (2°C-8°C) por 5 días. Si el almacenaje excede los 5 días, almacene en congelador (-20°C) hasta por un mes.
3. Evite múltiples ciclos de congelar-descongelar.
4. Antes del ensayo, los sueros congelados deben descongelarse completamente y mezclarse bien.
5. No usar muestras extremadamente lipémicas.

## PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Diluya el indicador de enzima T3U 1:11 con el buffer de captación T3 en un contenedor adecuado.  
Por ejemplo: diluya 160 µl de conjugado con 1.6 ml de buffer para 16 pocillos (se hace un ligero exceso de solución). Este reactivo deberá ser usado dentro de las 24 horas para un máximo de ejecución del ensayo. Almacenar de los 2°C-8°C.

### Fórmula General:

Cantidad de buffer requerido= Número de pocillos \* 0.1

Cantidad de Enzima T3 necesaria= Número de pocillos \* 0.1

Ejem= 16 x 0.1 = 1.6 ml para buffer de captación T3.

16 x 0.1 = 1.6 ml (160 µl) para la enzima conjugada T3.

2. Buffer de lavado. Diluir el contenido del Concentrado de lavado de 1000 ml con agua destilado o desionizada en un contenedor adecuado para su almacenaje. Almacene el buffer diluido de 2°C-30°C por un máximo de 60 días.
3. Solución reactivo de señal de trabajo. Almacene de 2°C-8°C. Determine la cantidad de reactivo necesario prepare por proporciones iguales el reactivo de señal A y reactivo de señal B en un contenedor limpio. Por ejemplo, agregue 1 ml del reactivo A y 1 ml de reactivo B por dos (2) en ocho tiras de pozo (se hace un ligero exceso de solución). Deseche la porción no utilizada si no se usa dentro de las 36 horas posteriores a la mezcla. Si se anticipa la utilización completa de los reactivos, dentro del límite de tiempo anterior, vierta el contenido del reactivo de señal B en el reactivo de señal A y etiquete como corresponda.

**Nota: No use reactivos que estén contaminados o que tengan crecimiento de bacterias.**

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Formatear los pocillos de las microplacas para cada referencia de suero/plasma, control y muestra del paciente que se analizarán por duplicado. Vuelva a colocar las tiras de micropocillos usadas en la bolsa de aluminio, selle y almacene a 2°C-8 °C.
2. Pipetear 0.025 ml (25 µl) del suero/plasma de referencia, control o muestra apropiada en el pocillo asignado.
3. Agregue 0.100 ml (100 µl) de reactivo de trabajo 1, T3U-enzima con solución trazadora a todos los pocillos.
4. Agite la microplaca suavemente durante 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar 45 minutos a temperatura ambiente.
6. Desechar el contenido de la microplaca por decantación o aspiración. Si se decanta, seque la placa con papel absorbente.
7. Agregue 350 µl de buffer de lavado (vea la Sección Preparación de Reactivos), decante (tocar y borrar) o aspire. Repita cuatro (4) veces más para un total de cinco (5) lavados. Se puede utilizar una lavadora de placas automática o manual. Siga las instrucciones del fabricante para un uso adecuado. Si se usa una botella exprimible, llene cada pocillo presionando el recipiente (evitando burbujas) para dispensar el lavado. Decante el lavado y repita cuatro (4) veces más.

8. Agregue 0.100 ml (100 µl) de solución de señal reactiva de trabajo a todos los pozos (véase la sección de la preparación el reactivo). Agregue siempre los reactivos en el mismo orden para reducir al mínimo diferencias de tiempo de reacción entre los pozos.
9. Incube por cinco (5) minutos en la oscuridad.
10. Lea las Unidades Relativas de Luz (URL) en cada pozo usando un Luminómetro de microplato. Los resultados se deben leer en el plazo de treinta (30) minutos de agregar la solución de paro.

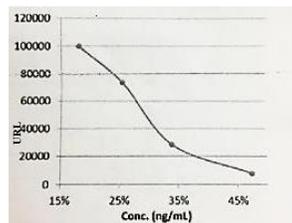
### CÁLCULO DE RESULTADOS

Una curva en la reacción se usa para comprobar la capacidad de instauración tiroidea obligada en especímenes desconocidos.

1. Registre las URL obtenida de la impresora del lector de microplacas conforme al ejemplo 1.
2. Trace las URL para cada referencia duplicada del suero/plasma contra la correspondiente de %T3-Captación (%U) en el papel de gráfico lineal. (No promedie los duplicados de referencias del suero/plasma antes de trazar).
3. Dibuje la mejor curva a través de los puntos trazados.
4. Para determinar el porcentaje de T3 Captación para un desconocido, localice la absorbencia media de los duplicados para cada desconocido en el eje del gráfico, encuentre el punto que se interseca en la curva, y lea el % de T-Captación (%U) del eje horizontal del gráfico (los duplicados del desconocido se pueden hacer un promedio según lo indicado). En el siguiente ejemplo, el promedio de URL 42201 (intercepta la curva de reacción en 30.8%U).

### Ejemplo de una Curva Estándar Típica

	URL	Valor en %U
Estándar 1	100000	18.0 %
Estándar 2	73173	25.5 %
Estándar 3	28174	34.0 %
Estándar 4	7697	47.5 %



### INTERPRETACIÓN

1. Las mediciones e interpretación de resultados deberán ser realizadas por una persona capacitada o un profesional.
2. Los resultados de laboratorio por sí solos son solo un aspecto para los determinantes de la atención del paciente y no deben ser la única base para la terapia, especialmente si los resultados entran en conflicto con otros determinantes.
3. Para resultados válidos de las pruebas, los controles y otros parámetros deberán ser adecuados dentro de los rangos y requisitos de ensayo enumerados.
4. Si el Kit de prueba se encuentra alterado, como mezclar partes de otros Kits, produciría resultados falsos en las pruebas, o si los resultados son interpretados incorrectamente, nosotros no seremos responsables.
5. Si se usa la reducción de datos controlada por computadora para interpretar los resultados de la prueba, es imperativo que los valores predichos para los calibradores estén dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
6. La Prueba de T3 Captación es depende de una multiplicidad de factores: la glándula de la tiroides y su regulación, la concentración de la globulina transportadora de tiroxina (TBG), y la unión de las hormonas tiroideas a TBG. Por tanto, la prueba T3-Captación por sí sola no es suficiente para evaluar el estado clínico.

7. El índice de tiroxina libre (FTI), que es el producto de la proporción T-Captación y la concentración total de tiroxina, ha ganado una amplia aceptación clínica como una evaluación más precisa del estado tiroideo (9). El valor de FTI compensa cualquier condición o fármaco, como el embarazo o los estrógenos, que altere la TGB y la T4 que altera los niveles de TGB y T4 pero no cambia el estado tirometabólico. Una tabla de fármacos y condiciones que interfieren, que afectan la prueba T3-Captación, ha sido recopilada por la revista de la Asociación Americana de Químicos Clínicos (10).

### BIBLIOGRAFÍA

1. Inada, M., and Sterling, K., J. Clin. Invest, 46, 1442 (1967).
2. Murphy, B., 1968, Radioisotopes in Medicine, U.S. Atomic Energy Commission, Technical Information Center, Tennessee.
3. Hollander, C.S. and Shenkman, L. 1974, Methods of Hormone Radioimmunoassay, Academic Press, New York.
4. Hamolsky, M.W., Stein, M. and Freedberg, S.A. J. Clin. Endocrinol, 17, 33 (1957).
5. Hbert, V., U.S. Patent Office #3, 442, 819 (1971).
6. Mitchel, M.L., and Waliszewski, Am. J. Clin. Endocrinol, 20, 1474 (1960).
7. Rolleri, E., Buzzigoli, G. and Plassio, C., J. Nucl. Med., 13, 892 (1972).
8. Nusynowitz, M.L., and Waliszewski, Am. J. Clin. Pathol. 56. 523 (1971).
9. Clarck, F. and Horn, D.B., J. Clin. Endocrinol Metab, 25, 39 (1965).
10. Young, D. S., Pestander, L.C. and Giberman, U., Clinical Chemistry, 21, 3660 (1975).