INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS
fT4

Para la determinación cuantitativa de la tiroxina libre (fT4)

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de la tiroxina libre (fT4) en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La tiroxina (T4) es la principal hormona producida por la tiroides, después de la estimulación de la hormona estimulante de la tiroides humana (hTSH). La T4 circula principalmente unida a proteínas transportadoras, como albúmina, prealbúmina y TBG (globulina fijadora de tiroxina). Solo la fracción libre (fT4), que representa aproximadamente el 0.03 % de la T4 circulante, es realmente activa. La concentración de T4 total depende no solo del estado tiroideo del sujeto y de la conversión periférica de la T4, sino también de la concentración de proteínas transportadoras, que varía al cambiar sus niveles en sangre. Por el contrario, la concentración de fT4 es independiente de estos factores y, por lo tanto, puede reflejar el estado tiroideo del paciente, por lo que es más segura y fiable para fines de diagnóstico.
La dosificación de fT4 es importante en casos de hipertiroidismo (enfermedad de Graves o adenoma tóxico), seguimiento de pacientes hipotiroideos tratados con tiroxina (T4) y fármacos antitiroideos, y en casos de síndrome de disminución de T4 (enfermedad de Hashimoto). Para un diagnóstico correcto, la dosificación de fT4 debe asociarse a la dosificación de fT3 y TSH, y a los datos clínicos del paciente.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus fT4 está listo para su uso para la detección de la tiroxina libre, en los equipos Chorus TRIO.
El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) por competencia.
El anticuerpo monoclonal anti-T4 se une a la fase sólida y la T4 libre (fT4) presente en la muestra humana compite con la T4 conjugada con peroxidasa de rábano. Cuanto mayor es la concentración de fT4 en la muestra analizada, menor es la cantidad de T4 conjugada que se une.
Tras varios lavados destinados a eliminar los componentes que no han reaccionado, se añade el sustrato para peroxidasa. Después se inhibe la reacción enzimática mediante la incorporación de solución inhibidora, que hace que la solución adquiera un color amarillo.
El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en el suero analizado.
Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus TRIO.
El resultado se expresa en pmol/l.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Desecho de los residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras utilizadas se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, de acuerdo con las disposiciones normativas vigentes.

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Poner los dispositivos a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el hondo.

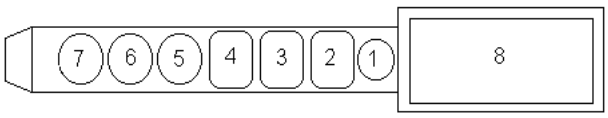
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
   El uso del kit sólo es posible con una versión actualizada del software. Asegúrese de que el software instalado en el equipo coincida o tenga un release (Rel.) superior a lo que está indicado en la tabla publicada en el sitio (http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/**)**
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictéricas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras
Posición 7: libre
Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA
Sensibilizado con anticuerpos monoclonales anti-T4
Posición 5: libre
Posición 4: SUSTRATO TMB
Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y H_2O_2 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)
Posición 3: SOLUCIÓN INHIBIDORA
Contenido: solución de ácido sulfúrico 0.3 M
Posición 2: CONJUGADO
Contenido: T4 marcado con peroxidasa, en una solución tampón fosfato con fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%.
Posición 1: POCILLO LIBRE
Donde el usuario debe dispensar el suero sin diluir.

Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente, abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y **cerrar** presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.250 mL**
Contenido: Suero humano diluido que contiene fT4 y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO **1 x 0.500 mL**
Contenido: Suero humano diluido que contiene fT4 y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY REF 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Equipo Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente Infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada por medio del suero de control (ver capítulo 9, "Validación de la prueba").

La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la apertura y/o preparación.

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8°C
CONTROL POSITIVO	8 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.
No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.
El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 2 días; para conservaciones más largas congelar a –20ºC.
La muestra puede descongelarse una vez.
No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso.
La inactivación por calor puede dar resultados erróneos.
La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, “Precauciones”.
3. Dispensar 80 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo. Por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el suero de control positivo para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario realizar de nuevo la calibración. Los resultados previos se corregirán automáticamente.
Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus TRIO proporciona un resultado en pmol/l (ng/dl = pmoli/l/12.87), calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

La prueba del suero examinado puede ser interpretada de la manera siguiente:

Hipotiroidismo	< 11.6
Eutiroidismo	11.6 – 25.7
Hipertiroidismo	> 25.7

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescinda de otros indicadores relativos al mismo paciente.
Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 2.6-96.5 pmol/l.
Para muestras > 96.5 pmol/l repetir la prueba diluyendo previamente la muestra en PBS 1X.

13. VALORES DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante la prueba de 120 sueros de donantes sanos, oscilaron entre 11.7 y 24.5 pmol/l.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se ha realizado un estudio usando los reactivos del kit en presencia de sustancias potencialmente interferentes como triyodotironina, monoyodotirosina, diyodotironina, ácido triyodotiroacético y ácido tetrayodotiroacético.
La presencia de estas sustancias no altera significativamente el resultado de la prueba.

15. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 90 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

Resultados de la prueba:

Correlación	r	95%CI
Pearson	0.92	0.88-0.95
Spearman	0.70	0.52-0.76

El grado de correlación entre ambos métodos es muy alto (Pearson) y alto (Spearman).

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (pmol/l)	CV%	Media (pmol/l)	CV%
1	27.7	4.2	13.1	7.5
2	16.4	3.5	18.8	11.5
3	33.2	2.5	37.5	5.9
4	42.6	2.8	8.70	10.1

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (pmol/l)	CV%	Media (pmol/l)	CV%
1	14.6	10.1	14.6	4.2
2	23.9	13.1	23.9	1.0
3	38.2	2.1	38.2	2.6
4	9.27	7.6	9.26	10.9

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Rousset B, Dupuy C., Miot F. and Dumond J. Rhyroid Hormone Synthesis and Secretion. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-2015 Sep 2
2. Sapin R., Schlienger JL. Thyroxine (T4) and tri-iodothyronine (T3) determinations: techniques and value in the assessment of thyroid function. Ann Biol Clin (Paris). 2003 Jul-Aug; 61(4):411-20.
3. Truter I. Clinical review: hyper- and hypothyroidism S Afr Pharm 2011 Vol 78 No 6.
4. Petrone L., Forti G.. Diagnosi e monitoraggio nei pazienti con sospetto ipertiroidismo e ipotiroidismo. Toscana Medica 8/2017, 34-37.
5. Daval S., Tridon A., Mazeron N., Ristori J.M. and Evrard B. The Effect of freezing, thawing and short and long-term storage on serum thyrotropin, thyroid hormones and thyroid autoantibodies: implications for analyzing samples stored in serum banks. Clin Chem. Nov; 53(11): 1986-1987 (2007).