

# PATHOZYME<sup>®</sup> THYROID STIMULATING HORMONE <sup>Ref</sup> OD387

## Test ImunoEnzimatic pentru determinarea cantitativă a TSH în serul uman

### Depozitați la 2°C - 8°C. NU CONGELAȚI

### Doar pentru diagnostic in-vitro.

#### INTRODUCERE

Determinarea nivelurilor serice sau plasmatiche de hormon stimulant al tiroidei (TSH) este recunoscută a fi o metodă sensibilă pentru diagnosticul Hipotroidismului Primar și Secundar. TSH este secretat de lobul anterior al hipofizei și induce producerea de Tiroxină (T4) și Triiodotironină (T3) de către tiroidă. Din punct de vedere structural, TSH este o glicoproteină de 28.000 daltoni alcătuită din lanțuri alpha și beta chimic diferite.

Cu toate că nivelurile normale de TSH din sânge sunt extrem de scăzute, sunt esențiale pentru reglarea funcției normale a Tiroidei. Eliberarea de TSH este reglată de hormonul de eliberare a TSH (TRH) produs de hipotalamus. Nivelurile de TSH și TRH sunt invers dependente de nivelul sanguin al hormonului tiroidian. Atunci când în sânge se găsesc niveluri mari de TSH, se eliberează mai puțin TRH de către hipotalamus ceea ce va determina scăderea secreției de TSH la nivelul hipofizei. Acest proces este cunoscut sub numele de mecanism de feedback negativ și este responsabil pentru menținerea unor niveluri normale de TSH în sânge.

TSH și glicoproteinele hipofizare: hormonul luteinizant (LH), hormonul de stimulare a foliculilor ovarieni (FSH) și gonadotropina corionică umană (hCG) au lanțuri alfa identice. În fiecare caz, lanțul beta este distinct, cu toate că au secvențe de aminoacizi identice care pot determina o considerabilă reactivitate încrucișată cu unele anti-seruri policlonale TSH.

Utilizarea anticorpilor monoclonali în testul **PATHOZYME TSH** elimină această interferență, care poate determina valori fals crescute de TSH la femeile gravide sau aflate la menopauză; o populație a cărei evaluare a status-ului tiroidian este semnificativă din punct de vedere clinic.

Următoarele preparate au fost testate ca negative: HCG (al doilea Standard Internațional OMS 61/2) la 200.000 mU/ml, FSH (al doilea Preparat de Referință Internațional OMS HMG) la 200 mU/ml, LH (primul Preparat de Referință Internațional OMS 75/504) la 200ng/ml și GHG (primul Preparat de Referință Internațional OMS 65/217) la 200ng/ml.

#### UTILIZARE

**PATHOZYME TSH** este un test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a hormonului stimulant al tiroidei (TSH) în serul uman. A fi folosit doar de personalul medical.

#### PRINCIPIUL TESTULUI

Anticorpii specifici anti-TSH sunt fixați de godeurile de microtitrare. Se aplică serul de testat. Se adaugă apoi anticorpii anti-TSH de capră marcați cu peroxidază de hrean (Conjugat). Dacă în probă este prezent TSH uman, acesta se va combina cu anticorpii din godeu și Conjugatul enzimă, ceea ce va duce la formarea unei structuri de tip sandwich, molecula de TSH aflându-se între faza solidă și anticorpii legați de enzimă. La adăugarea substratului (TMB) va apare o culoare doar în acele godeuri în care este prezent Conjugatul enzimă, ceea ce indică prezența TSH. Reacția enzimatică este oprită prin adăugarea de acid clorhidric diluat după care se măsoară absorbanta la 450nm.

Acest test a fost calibrat cu al doilea Preparat de Referință Internațional pentru TSH NIBSC, 1983, 80/558.

#### CONȚINUT

<sup>Ref</sup>  
OD387



<b>Microtitre Plate</b>	12 x 8 godeuri x 1
Godeuri detașabile "căptușite" cu anticorpi specifici, conținute într-o pungă resigilabilă de folie care conține și un desicant.	
<b>Cal A</b>	0 μIU / ml
Standard Referință: Ser uman fără TSH. Liofilizat. (Incolor)	
<b>Cal B</b>	0,5 μIU / ml
Standard Referință: TSH diluat în ser uman. Liofilizat. (Incolor)	
<b>Cal C</b>	2 μIU / ml
Standard Referință: TSH diluat în ser uman. Liofilizat. (Incolor)	
<b>Cal D</b>	5 μIU / ml
Standard Referință: TSH diluat în ser uman. Liofilizat. (Incolor)	
<b>Cal E</b>	10 μIU / ml
Standard Referință: TSH diluat în ser uman. Liofilizat. (Incolor)	
<b>Cal F</b>	25 μIU / ml
Standard Referință: TSH diluat în ser uman. Liofilizat. (Incolor)	
<b>Washbuf</b>	20X
Tampon Spălare concentrat: Tampon Tris conținând detergenți. (Incolor)	
<b>Conj</b>	11 ml
Conjugat TSH HRP: TSH conjugat de peroxidază hrean. Gata de lucru. (Roșu)	
<b>Subs</b>	TMB
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru (Incolor)	
<b>Soln</b>	Stop HCl 1M
Soluție Stopare: Acid clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru (Incolor)	
Broșură Instrucțiuni și Fișa de înregistrare date EIA	

#### MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100μl, 200μl, 1000μl și 5000μl  
Virfuri de pipetă de unică folosință  
Incubator: temperatură 37°C ± 1°C  
Hirtie absorbantă  
Cititor de microplăci cu filtru de 450nm  
Hirtie milimetrică  
Sticlărie de laborator foarte curată.

#### PRECAUȚIUNI

**PATHOZYME TSH** conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV I și II și pentru HbsAg, la nivel de donor unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o garanție completă că produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atât în timpul utilizării cât și sunt deșeurii. Nu ingerați.

Reactivii **PATHOZYME TSH** nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic atât când sunt folosite cit și când sunt deșeurii. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare **PATHOZYME TSH** este acid clorhidric diluat și este deci corozivă. Manipulați cu grijă. În caz de contact cu tegumentul spălați cu grijă cu apă.

Reactivii **PATHOZYME TSH** conțin Proclin™ 300\* în concentrație de 1% ca și conservant. Este toxică atunci când este ingerată. În caz de contact, spălați bine cu apă de la robinet și consultați un medic.  
\* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată a ROHM & HAAS Limited.

#### DEPOZITARE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată pînă la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV (cu excepția depozitării standardelor) deoarece aceasta va fi iremediabil alterat.

#### RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Recoltați o probă de sânge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sânge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt.

Nu folosiți pentru testare ser hemolizat, contaminat sau lipemic deoarece aceasta va influența nedorit rezultatele.

Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de 1 an. Probele decongelate trebuie amestecate bine înainte de a fi utilizate.

Nu folosiți ca și conservant Azida sodică deoarece aceasta va inhiba sistemul enzimatic Peroxidază.

Nu congelați-decongelați în mod repetat probele – veți obține rezultate false.

#### PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor înainte de utilizare. Evitați formarea spumei.

Standarde:  
Adăugați 1ml de apă distilată în fiecare flacon de Standard pentru a reconstitui standardele liofilizate. Lăsați în repaus cel puțin 20 de minute înainte de utilizare. Standardele rehidratate vor fi stabile 30 de zile atunci când sunt depozitate la 2°C - 8°C. Pentru depozitare pe perioadă mai mare, sigilați și păstrați la -20°C. Standardele decongelate trebuie amestecate ușor înainte de utilizare.

Tampon Spălare:  
Diluati Tamponul de Spălare concentrat folosind o parte de Tampon Spălare concentrat cu 19 părți de apă distilată. Pentru fiecare strip de 8 godeuri, pregătiți 25 ml de Tampon Spălare diluat adăugînd 1,25ml de Tampon Spălare concentrat la 23,75ml de apă distilată. Pregătiți Tampon de Spălare proaspăt diluat pentru fiecare rulare de teste. În kit este livrat Tampon de Spălare suplimentar pentru a putea amorsa spălătorului automat de microplăci.

Procedura de spălare este critică pentru rezultatul testului. O spălare insuficientă va determina o slabă precizie și rezultate fals crescute pentru absorbanta.

#### LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor tipuri de probe, altele decît serul nu a fost validată pentru acest test. Nu există protocol de reutilizare pentru acest produs.

Atunci cînd faceți interpretarea testului este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie să fie stabilit doar pe baza rezultatelor unui singur test clinic.

## PROCEDURA DE TESTARE

1. Aduceți toate componentele kit-ului și serul de testat la temperatura camerei (20°C-25°C) înainte de a începe testarea.
2. Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare procesare de probe. Fixați numărul dorit de godeuri în stativ. Înregistrați poziția standardelor și a serului de testat pe Fișa de Înregistrare a Datelor EIA.
3. Stripurile nefolosite trebuie resigilate în punga de folie conținând desicant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
4. Pipetați 100μl de Standarde și seruri de testat în godeurile potrivite.
5. Pipetați 100μl de Conjugat Anti-TSH în fiecare godeu. Amestecați bine 30 secunde. Este foarte important să amestecați complet.
6. Incubați timp de 60 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
7. Spălare Manuală. La sfârșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșeuri cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hirtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeuri să se afle un dezinfectant corespunzător.
8. Umpleți godeurile cu minimum 300μl de Tampon Spălare pentru fiecare godeu. Întoarceți brusc placa deasupra recipientului de deșeuri biologice. Loviți placa de hirtie absorbantă. Spălați godeurile goale de 5 ori.
9. Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
10. Spălare Automată: controlați ca 300μl de Tampon Spălare să fie pipetați în fiecare godeu și ca în recipientul cu deșeuri să fie adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile de 5 ori. După ce spălați, îndepărtați excesul de lichid lovind placa inversată de o hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
11. Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 5 secunde.
12. Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
13. Opriti reacția adăugând 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu.
14. Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă a culorii albastre în galben.
15. Citiți imediat densitatea optică (pînă în 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

## EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucișată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece se poate produce contaminare.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20° - 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blînde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

## CALCULAREA REZULTATELOR

Calculați valoarea absorbantei medii ( $A_{550}$ ) pentru fiecare set de standarde și probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbanta medie pentru fiecare Standard în funcție de concentrația în μU/ml pe hirtie milimetrică, cu valorile absorbantei pe axa Y și concentrațiile pe axa X.

Folosiți valorile absorbantei medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de TSH în μU/ml din curba standard.

Dacă nivelurile Calibratorilor sau ale probelor cu valori cunoscute nu dau rezultatele scontate, rezultatele testului trebuie considerate invalide.

Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

## VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Graficul produs de calibratori trebuie să aibă o formă hiperbolică cu densitatea optică (DO) citită la 450 nm proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mică de 0,3 iar DO a calibratorului F mai mare de 1,5 pentru ca rezultatele testului să fie valide. Valorile normale pentru adulții cu vîrstă de 21-54 de ani este 0,4 – 4,2 μU/ml, crescînd la 0,5 – 8,9 μU/ml între vîrstele 55-87 de ani. În timpul sarcinii domeniile normale sunt după cum urmează: în primul trimestru 0,3 – 4,5 μU/ml, în al doilea Trimestru 0,5-4,6 μU/ml iar în cel de-al treilea trimestru 0,8-5,2 μU/ml. Au fost măsurate concentrații de 1.000 μU/ml cu PATHOZYME TSH fără a apare efect de prozonă (Hook).

## DATE DE EVALUARE

Calibrat cu competitorii importanți și cu standarde interne.  
Coeficientul de variație PATHOZYME TSH este mai mic decît sau egal cu 10%.

În cursul unei evaluări între kit-ul Pathozyme TSH produs de Omega și kit-ul Immulite 2000 TSH produs de DPC, pentru probe cu valori cuprinse între 0,4 și 63 μU/ml, au fost generate următoarele date:

Număr de probe	59
Coeficient de Corelație	0,994
Pantă	1,027
Intercept	0,787
Medie Omega	8,39 μ U/ml
Medie DPC	9,41 μ U/ml

Între aceste kit-uri s-a dovedit o bună corelație.

## BIBLIOGRAFIE

1. Soos, M., and Siddle, K. *J. Immunol. Methods* 1982;51:57-68.
2. Wada, H.G., Danisch, R.J., and Baxter, S.R. *Clin. Chem.* 1982;28:1862-1866.
3. Uotila, M., Rouslahti, E., and Engvall, E. *J. Immunol. Methods* 1981;42:11-15.
4. Burger, H.G., and Patel, Y.C. Thyrotropin releasing hormone-TSH. *Clinic. Endocrinol. Metab.* 1977;6:831.
5. Snyder, P.J., and Utiger, R.D. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1972;34:380-385.

## GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

1. Pipetați 100μl de ser de testare sau Standarde și 100μl de Conjugat Enzimă în fiecare godeu. Amestecați ușor timp de 30 de secunde.
2. Incubați 60 de minute la temperatura camerei (20°C- 25°C).
3. Aruncați conținutul godeurilor și spălați de 5 ori cu tampon de spălare.
4. Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu. Amestecați ușor 5 secunde.
5. Incubați la întuneric 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
6. Adăugați 100μl de Soluție Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 30 de secunde.
7. Citiți Densitățile Optice imediat (nu mai tîrziu de 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

8088 ISSUE 6 Revised October 2005 ROMANIAN  
© Omega Diagnostics Ltd., 2005



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.  
Omega House, Hillfoots Business Village  
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom  
odl@omegadiagnostics.co.uk  
www.omegadiagnostics.com  
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY