

PATHOZYME[®] THYROID STIMULATING HORMONE

Ref OD387 Inmunoanálisis de enzima para la determinación del TSH en suero humano.

Almacene entre los 2°C y los 8°C. NO CONGELE

Para uso In vitro únicamente

INTRODUCCIÓN

La determinación de niveles de suero o plasma de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) es reconocida como un método sensible en el diagnóstico primario y secundario del hipotiroidismo. El TSH es secretado por el lóbulo anterior de la glándula pituitaria e induce la producción de la tiroxina (T₄) y de la Triiodotirodina (T₃) de la glándula tiroides. Estructuralmente, el TSH es una glicoproteína de 20.8887 Dalton consistente en cadenas alfa y beta químicamente diferentes.

Aunque el nivel normal del TSH en la sangre es extremadamente bajo, es esencial para la regulación normal de la glándula tiroides. La producción de TSH es regulada por la hormona TSH de producción (TRH) producida por el hipotálamo. Los niveles de TSH y de TRH están inversamente relacionados con el nivel de la hormona tiroidea. Cuando existen niveles altos de TSH en la sangre, el hipotálamo producirá menos TRH y a su vez, el TSH es secretado por la pituitaria. El proceso es conocido como mecanismo de retroalimentación negativa y es el responsable de mantener los niveles apropiados de la TSH en la sangre.

El TSH y las glicoproteínas de la pituitaria: La hormona luteinizante (LH), la hormona Foliculo Estimulante (FSH) y la gonadotropina coriónica humana (hCG) tienen todas una idéntica cadena alfa. En cada caso la cadena beta es diferente aunque hay secuencias amino ácidas idénticas las cuales causan una reactividad cruzada considerable con algunos antisuero TSH policlonales.

El uso de anticuerpos monoclonales en el PATHOZYME TSH elimina esta interferencia la cual podría dar como resultado unos valores TSH falsamente elevados tanto en mujeres menopáusicas como en mujeres embarazadas; una población cuya elevación del estatus tiroideo es clínicamente significativo.

Las siguientes preparaciones fueron analizadas como negativas: hCG (2da. Referencia internacional del WHO 61/2) a 200,000 mIU/ml, FSH (2da. Referencia internacional del WHO Preparación HMG) a 200 mIU/ml, LH (1 da. Referencia internacional del WHO Preparación 75/504) a 200 ng/ml y HGH (1da. Referencia internacional del WHO, Preparación 65/217) a 200ng/ml.

USO PREVISTO

El PATHOZYME TSH es un inmunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) en suero humano y es para uso profesional únicamente.

EL PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Se cubren los pozos de microtitulación con anticuerpos específicos anti-TSH: Se añade el suero de prueba. Enseguida se añade el anti-TSH de cabra etiquetado con enzima de peroxidasa de rábano conjugada. Si el TSH humano está presente, se combinará con el anticuerpo en el pozo y la enzima conjugada dando como resultado que se produzca un "sándwich" entre la fase sólida y los anticuerpos ligados a enzima. Después de la incubación, se lavan los pozos para retirar anticuerpos etiquetados no ligados. Al añadir el sustrato (TMB) se desarrollará un color pero únicamente en los pozos con el conjugado de enzima está presente. La reacción de la enzima es enseguida detenida añadiendo ácido clorhídrico diluido para luego proceder a medir la absorción a 450nm. Esta prueba ha sido calibrada a la hormona NIBSC estimulante de la tiroides, preparación de la 2da, referencia internacional 1983 80/558.

Ref
OD387

CONTENIDO



Microtitre Plate	12 x 8 pozos x 1		
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico empacados en una bolsa de hojilla de aluminio resellable y con desecante.			
Cal A	0 µ IU / ml	1 ml	
Estándar de referencia: Suero humano libre de TSH. Liofilizado. (Incoloro)			
Cal B	0.5 µ IU / ml	1ml	
Estándar de referencia: TSH diluido en suero humano. Liofilizado. (Incoloro)			
Cal C	2 µ IU / ml	1ml	
Estándar de referencia: TSH diluido en suero humano. Liofilizado. (Incoloro)			
Cal D	5 µ IU / ml	1ml	
Estándar de referencia: TSH diluido en suero humano. Liofilizado. (Incoloro)			
Cal E	10 µ IU / ml	1ml	
Estándar de referencia: TSH diluido en suero humano. Liofilizado. (Incoloro)			
Cal F	25 µ IU / ml	1ml	
Estándar de referencia: TSH diluido en suero humano. Liofilizado. (Incoloro)			
Washbuf	20X	50ml	
Concentrado de buffer de lavado: Buffer basado en Tris con detergentes. (Incoloro)			
Conj		11 ml	
Conjugado HRP TSH: TSH conjugado a peroxidasa de rábano, listo para su uso (rojo)			
Subs	TMB	11 ml	
Solución de sustrato: 3,3', 5,5' Tetrametil bencidina en buffer de citrato. Listo para su uso. (Incoloro)			
Soln	Stop HCl	1M	11ml
Solución de paro: Ácido clorhídrico diluido en agua purificada. Listo para su uso. (Incoloro)			

Hojilla de instrucciones y hoja de registro de datos EIA 1 + 1

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

Micropipetas 100µl 200µl, 1000µl Y 1500µl
Puntas de pipeta desechables
Papel absorbente
Lector de micro placa con filtro de 450nm.
Papel gráfico

PRECAUCIONES

El PATHOZYME TSH contiene materiales de origen humano los cuales han sido examinados y confirmados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV I y II y para el HBSAg usando procedimientos de examen aprobados por la FDA a nivel de donante sencillo. Ya que ninguna prueba puede ofrecer una seguridad total de que los productos derivados de fuente humana no puedan transmitir agentes infecciosos, se recomienda que los reactivos de este kit sean manejados con cuidado extremo y atención durante su uso y disposición. No los ingiera.

Los reactivos del PATHOZYME TSH no contienen sustancias peligrosas según lo definen las regulaciones químicas británicas (Información de peligro y empaque para el suministro). Sin embargo, todos los reactivos deben tratarse como potencialmente bio peligrosos tanto en su uso como en su disposición. La eliminación final debe estar en concordancia con la legislación local.

La solución de paro del PATHOZYME TSH es ácido clorhídrico diluido, por consiguiente, es altamente corrosivo. Manéjelo con cuidado. En caso de contacto, lave totalmente con agua abundante.

El PATHOZYME TSH contienen un 1% de Proclin 300* como preservativo el cual puede ser tóxico si se ingiere. En caso de contacto, lave totalmente con agua corriente y busque atención médica.

*Proclin® 300 es una marca registrada de ROHM & HAAS Limited.

ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro de un rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C.

La fecha de vencimiento es el último día del mes y se encuentra marcado en la botella y en la etiqueta del kit. El kit se desempeñará según las especificaciones escritas hasta la fecha de vencimiento determinada, la cual es tomada teniendo en cuenta la fecha de fabricación del producto. No use los reactivos pasada la fecha de vencimiento.

Debe evitarse la exposición de los reactivos a temperaturas extremas ni a luz solar directa.

NO CONGELE LOS REACTIVOS (Excepto los estándares para almacenamiento) ya que esto los hará completamente inservibles.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPECIMEN

Obtenga una muestra de sangre venosa del paciente y permita que se forme un coágulo y que se retraiga. Centrifugue la muestra de sangre coagulada y recolecte el suero claro. Se requieren muestras de suero frescas.

No use suero lipémico ni hemolizado ni contaminado para la prueba ya que estas circunstancias afectaran adversamente los resultados.

El suero puede almacenarse entre los 2°C y los 8°C hasta por 48 horas antes de efectuar la prueba. Si se requiere un almacenamiento más prolongado, almacene a -20° hasta por 1 año. Las muestras derretidas, deben mezclarse completamente antes de efectuar las pruebas.

No use como preservativa la Asida de Sodio ya que este producto podrá inhibir el sistema de enzima de peroxidasa.

No haga ciclos de congelar-descongelar repetitivos pues esto causará resultados falsos.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos deben llegar a temperatura ambiente (20° a 25°C) deben mezclarse totalmente antes de usarlos. No induzca la formación de espuma.

Estándares:

Añada 1 ml de agua destilada a cada ampolla de estándar para reconstituir los estándares liofilizados. Déjelos quietos por un mínimo de 20 minutos antes de usarse. Los estándares re hidratados permanecerán estables hasta por 30 días siempre y cuando se almacenen dentro del rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C. Si se requiere un almacenamiento más prolongado, entonces proceda a almacenar a -20°C. Las muestras derretidas deben agitarse ligeramente antes de usarse.

Buffer de lavado:

Diluya la concentración de buffer de lavado usando una parte de concentrado de buffer de lavado con 19 partes de agua destilada. Por cada tira rompible de 8 pozos, prepare 25 ml de buffer de lavado diluido añadiendo 1.25ml de buffer de lavado concentrado a 23.75ml de agua destilada. Prepare solución fresca de buffer de lavado antes de cada tiraje de análisis. Se suministra buffer de lavado adicional para permitir el inicio de la máquina automática de lavado.

El procedimiento de lavado es crítico para el resultado del análisis. Un lavado insuficiente dará como resultado poca precisión y lecturas de absorción falsamente elevadas.

LIMITACIONES DE USO

No se han validado para esta prueba el uso de muestras diferentes a suero. No existe un protocolo de reutilización para este producto. Al efectuar una interpretación de la prueba se recomienda con vehemencia tener en cuenta todos los datos clínicos. No se debe hacer un diagnóstico basado únicamente en los resultados de un solo análisis clínico.

PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

1. Permita que los componentes del kit y el suero de prueba lleguen a temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de efectuar las pruebas.
2. Debe correrse solo un juego de estándares para cada grupo de suero de prueba. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el recipiente. Registre la posición de los estándares y el suero de prueba en la hoja de registro de datos suministrada.
3. Las tiras no usadas deben introducirse en la bolsa de hojilla de aluminio con desecante y sellarse con la cremallera zip-lock antes de colocarse dentro de la temperatura de 2°C a 8°C.
4. Distribuya 100 µl de estándares y suero de prueba a los pozos apropiados.
5. Distribuya 100 µl del conjugado anti-TSH a cada pozo. Mezcle completamente por 30 segundos.
6. Incube por 60 minutos a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C).
7. Lavado a mano: Al terminar el periodo de incubación, elimine el contenido de los pozos sacudiéndolos hacia un contenedor bio peligroso. Enseguida golpee firmemente los pozos contra papel absorbente. Asegure un contenido adecuado de desinfectante presente en el contenedor bio peligroso.
8. Llene los pozos con un mínimo de 300 µl de agua destilada por pozo. Sacuda el contenido de la placa hacia un contenedor bio peligroso. Luego golpee firmemente los pozos contra papel absorbente.
9. Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar todo residuo de agua en gotitas.
10. Lavado a máquina: Asegúrese de distribuir 300 µl de agua destilada por cada pozo y que se añada un desinfectante apropiado en la botella de recolección de desperdicio. Lave los pozos vacíos 5 veces. Después del lavado, retire el exceso de líquido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar toda agua residual en gotitas.
11. Distribuya 100 µl de solución de sustrato a cada pozo y agite suavemente por 5 segundos.
12. Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
13. Detenga la reacción añadiendo 100 µl de solución de paro a cada pozo.
14. Agite suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia completamente a amarillo.
15. Lea de forma inmediata la densidad óptica (no mas tarde de 10 minutos) usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Para ser usado por operarios con un entrenamiento mínimo de laboratorio.

No use los componentes del kit que estén dañados ni contaminados.

Use una punta desechable independiente para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

La duplicación de todos los estándares y especímenes se recomienda aunque no es absolutamente indispensable.

Deben correrse al mismo tiempo los especímenes y los estándares para mantener las condiciones de prueba iguales.

Se recomienda no usar mas de 32 pozos en cada análisis si se usa un pipeteo manual ya que el pipeteo de todos los estándares y especímenes debe completarse dentro de 3 minutos. Una placa completa de 96 pozos puede usarse si se usa un pipeteo automático.

Tape todos los reactivos inmediatamente después de usarse.

Evite el pipeteo repetido de los agentes almacenados ya que esto puede causar contaminación.

No mezcle los reactivos ni las tiras cubiertas de anticuerpo tomadas de diferentes kits. Al eliminarse, hay que tener mucho cuidado de no tocar la superficie del pozo.

No permita que el reactivo se escurra a los lados del pozo. Antes de empezar el análisis permita que todos los reactivos lleguen a la temperatura ambiente que oscile entre los 20°C y los 25°C. Agite suavemente los reactivos ya sea invirtiéndolos con suavidad o por giro.

Una vez que el análisis se iniciado, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

No contamine la solución de sustrato ya que esto inutilizaría todo el kit.

Revise la precisión y exactitud del equipo de laboratorio usado durante el procedimiento para asegurar resultados reproducibles.

Las tiras no usadas deben re introducirse en la bolsa resellable de hojilla de aluminio con desecante y sellarse usando la cremallera zip-lock y almacenarse a 2°C a 8°C.

EL CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de la absorción media (A450) por cada juego de estándares y especímenes. Construya una curva estándar dibujando en un papel gráfico la absorción media de cada estándar contra su concentración en µU/ml, con los valores de absorción en el eje Y y las concentraciones en el eje X. Use los valores medios de absorción de cada espécimen para determinar la correspondiente concentración del TSG en µU/ml de la curva estándar. Si el nivel de los calibradores o de las muestras conocidas de los usuarios no arrojan los resultados esperados, los análisis se deben considerar no válidos. Si usa el paquete de software, escoja una curva de regresión cuadrática.

VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

La gráfica producida por los calibradores deberá tener forma hiperbólica con el OD450 de los calibradores proporcional a su concentración. El OD del calibrador A debe ser menor a 0.2 y el OD del calibrador F deberá ser mayor que 1.5 para que los resultados del análisis sean válidos. Los valores normales para los adultos entre los 21 y 54 años de edad es de 0.4 a 4.2 µU/ml elevándose hasta 0.5 a 8.9 µU/ml entre las edades de 55 y 87 años. Durante el embarazo, los rangos normales se encuentran así: 1er. trimestre: 0.3 a 4.5 µU/ml, el 2do. Trimestre 0.5 a 4.6 µU/ml y 0.8 a 5.2 µU/ml en el tercer trimestre. Se han observado concentraciones de 01.000 µU/ml usando el PATHOZYME TSH sin efecto prozono (de gancho).

DATOS EVALUATIVOS

Calibrado con los competidores más importantes. El coeficiente de variación del PATHOZYME TSH es menor o igual a un 10%.

En una evaluación efectuada entre el kit PATHOZYME TSH y el kit PDPC Immulite TSH para muestras con niveles entre 0.4 y 63 U/ml, arrojó los siguientes datos

Número de muestras	59
Coefficiente de correlación	0.994
Pendiente	1.027
Interceptación	0.787
Medio del Omega	8.39 µU/ml
Medio del DPC	9.41 µU/ml

Estos kits mostraron arrojar una buena correlación.

REFERENCIAS

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.

REFERENCIA RÁPIDA DEL PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Distribuya 100 µl de estándares y de suero de prueba y 100 µl de enzima conjugada a cada pozo y mezcle totalmente durante 30 segundos.
2. Incube por 60' minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
3. Elimine el contenido de los pozos y lave 5 veces con agua destilada.
4. Añada 100 µl de solución de sustrato a cada pozo y agite suavemente por 5 segundos.
5. Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C)
6. Añada 100 µl de solución de paro a cada pozo y agite suavemente por 30 segundos.
7. Lea las densidades ópticas de forma inmediata (no mas allá de 10 minutos) usando un lector de micro placa con un filtro de 450nm.

8088 ISSUE 6 Revised October 2005 SPANISH
© 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