



DiaMetra



TSH

para análisis de rutina

Determinación inmunoenzimática de TSH en suero o plasma humano

IVD



LOT

Ver etiqueta externa

2°C 8°C



Σ = 96 ensayos

REF DKO013

USO PREVISTO

El ensayo TSH IEMA se usa para la determinación cuantitativa de la hormona estimulante de la tiroides (TSH, tirotropina) en suero o plasma humano.

1. SIGNIFICADO CLÍNICO

La hormona estimulante de la tiroides (TSH o tirotropina) es una hormona glicopolipeptídica sintetizada y secretada por la hipófisis anterior y regula la función endocrina de la glándula tiroides.

La TSH está formada por dos subunidades: la subunidad α es idéntica a la de la gonadotropina coriónica humana (HCG), la hormona luteinizante (LH), la hormona estimulante del folículo (FSH); la subunidad β es única para la TSH y, por lo tanto, determina su función.

La producción de TSH se controla por la hormona de liberación de tirotropina (TRH), que se produce en el hipotálamo y es transportada a la glándula pituitaria, en la que aumenta la producción y la liberación de TSH. Sin embargo, la somatostatina producida por el hipotálamo tiene un efecto opuesto en la producción pituitaria de TSH, puesto que disminuye o inhibe su liberación.

La TSH estimula la glándula tiroides induciendo la secreción de tiroxina (T4) y triyodotironina (T3). La liberación de TSH está regulada por la fracción libre circulante de hormonas tiroideas en la sangre.

Los niveles de TSH disminuyen cuando las concentraciones periféricas de la fracción libre de hormonas tiroideas son altas. Por el contrario, se presentan niveles altos de TSH cuando las concentraciones periféricas de las hormonas tiroideas son bajas. Este efecto genera un ciclo de retroalimentación negativa.

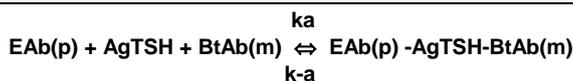
Los niveles de TSH se midieron en pacientes con sospecha de hipertiroidismo o hipotiroidismo, exceso o carencia de la hormona tiroidea. Los niveles normales de TSH se encuentran entre 0,3 y 3,0 mIU/mL, pero la interpretación depende de los niveles de las hormonas tiroideas (T3 y T4).

Niveles elevados de TSH junto con niveles elevados de las hormonas tiroideas (T3 y T4) pueden indicar una disfunción del hipotálamo y de la glándula pituitaria. En este caso, los niveles altos de TSH se producen a menudo por un tumor benigno hipofisario (adenoma). Por el contrario, niveles bajos de TSH y niveles bajos de T3 y T4 circulantes indican hipopituitarismo. En caso de niveles anormalmente elevados de T3 y T4, debidos a la sobreproducción en la tiroides, el mecanismo de retroalimentación, descrito anteriormente, provoca bajos niveles de TSH. Así se presenta en enfermedades como el

hipertiroidismo o la enfermedad de Graves. Por el contrario, una baja producción de T3 y T4 causada por enfermedades como el hipotiroidismo congénito (cretinismo), hipotiroidismo o resistencia de la hormona tiroidea, provoca un aumento de los niveles de TSH. Claramente, se deben medir ya sea la TSH o T3 y T4 para determinar qué disfunción tiroidea específica es causada por la hipófisis o por la tiroides.

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los requisitos esenciales para un ensayo inmunoenzimático son anticuerpos de alta afinidad y especificidad (conjugados con enzima e inmovilizados), con epítomos distintos. En este procedimiento, el anticuerpo se une a la superficie del pocillo mediante la interacción de la estreptavidina. A continuación, se añaden a los pocillos, en exceso, anticuerpos anti-TSH monoclonales biotinilados o bien anticuerpos conjugados con la enzima; ambos tipos de anticuerpos son de alta afinidad y especificidad, y reconocen epítomos distintos. En los pocillos de la microplaca, la reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos se produce sin competencia o impedimento estérico, y se forma un complejo sándwich soluble.



BtAb(m) = anticuerpo biotinilado monoclonal (en exceso)

AgTSH = antígeno nativo (cantidad variable)

EAb(p) = anticuerpo marcado con una enzima (en exceso)

EAb(p)-AgTSH-BtAb(m) = complejo sándwich antígeno-anticuerpo

ka = constante de asociación

k-a = constante de disociación

Al mismo tiempo, el complejo se deposita en el pocillo mediante la reacción de alta afinidad de la estreptavidina y el anticuerpo biotinilado. Esta interacción se ilustra a continuación:



Estreptavidina C.W. = estreptavidina inmovilizada en el pocillo

Compl. inmovilizado = enlace sándwich anticuerpo-antígeno

Tras lograr el equilibrio, la fracción unida del anticuerpo se separa del antígeno no unido mediante decantación o aspiración. La actividad enzimática en la fracción unida del anticuerpo es directamente proporcional a la concentración de antígeno nativo libre.

La actividad enzimática se cuantifica mediante la reacción con un sustrato que produce una coloración.

Usando distintos calibradores de concentración conocida de antígeno se puede generar una curva dosis-respuesta con la que se puede determinar la concentración desconocida del antígeno.

3. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

3.1. Reactivos y materiales suministrados en el kit

1. Estándares (STD) de TSH (7 frascos, 1 mL cada uno)

STD0	REF DCE002/1306-0
STD1	REF DCE002/1307-0
STD2	REF DCE002/1308-0
STD3	REF DCE002/1309-0
STD4	REF DCE002/1310-0
STD5	REF DCE002/1311-0
STD6	REF DCE002/1312-0

2. TSH Control (1 frasco, 1 mL)

La concentración del Control se indica en el certificado de calidad (Quality Control Report)

REF DCE045/1303-0

3. Conjugado (1 frasco, 13 mL)

Anticuerpo anti-TSH conjugado con peroxidasa de rabano (HRP)

Anticuerpo ratón anti-TSH biotinilado

REF DCE002/1302-0

4. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible)

Una microplaca recubierta con estreptavidina

REF DCE002/1303-0

5. Sustrato TMB (1 frasco, 15 mL)

H₂O₂-TMB (0,26 g/L) (evitar el contacto con la piel)

REF DCE004-0

6. Solución de parada (1 frasco, 15 mL)

Ácido sulfúrico 0,15 mol/L (evitar el contacto con la piel)

REF DCE005-0

7. Solución de lavado conc. 50X (1 frasco, 20 mL)

NaCl 45 g/L; Tween-20 55 g/L

REF DCE006-0

3.2. Reactivos necesarios no suministrados en el kit

Agua destilada.

3.3. Material e instrumentación auxiliares

Dispensadores automáticos.

Lector de microplacas (450 nm).

Nota

Conservar todos los reactivos a 2-8 °C, protegidos de la luz. Abrir la bolsa del reactivo 4 (microplaca recubierta) solo cuando se encuentre a temperatura ambiente y cerrarla inmediatamente después de extraer las tiras que se vayan a utilizar; una vez abierta, permanece estable hasta la fecha de caducidad del kit.

4. ADVERTENCIAS

- Este kit de ensayo está previsto para usarse in vitro y por personal experto.
- Usar los equipos de protección individual previstos al trabajar con los reactivos suministrados.
- El cromógeno TMB contiene un irritante que puede ser dañino si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para prevenir lesiones, evitar la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y con los ojos.
- La solución de interrupción está formada por una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo, y puede ser tóxico si se ingiere. Para prevenir posibles quemaduras químicas, evitar el contacto con la piel y con los ojos.
- Evite la exposición de los reactivos TMB/H₂O₂ a la luz solar directa, metales u oxidantes. No congelar la solución.
- Este método permite determinar concentraciones de TSH de 0,2 a 20,0 mIU/L

5. PRECAUCIONES

- Respetar rigurosamente la secuencia de los pasos indicados en este protocolo.
- Todos los reactivos deben conservarse a una temperatura controlada de 2-8 °C en sus recipientes originales. Todas las excepciones están claramente marcados.
- Antes del uso, esperar hasta que todos los componentes del kit y las muestras se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C) y mezclar cuidadosamente.
- No mezclar componentes de kits de lotes distintos. Se debe observar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja y de todas las ampollas. No usar componentes después de la fecha de caducidad.
- Si utiliza un equipo automático, es responsabilidad del usuario asegurar que la metodología aplicada haya sido debidamente validada.
- Un lavado incompleto o impreciso y la aspiración insuficiente del líquido de los pocillos ELISA pueden causar una precisión pobre y/o un elevado fondo.
- Para la reproducibilidad de los resultados, es importante que el tiempo de reacción sea igual para cada pocillo. El tiempo de dispensación de los pocillos no debe superar los 10 minutos; si se prolongara más allá de los 10 minutos, respétese el orden de dispensación. si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva de calibración en cada plato.
- Al añadir el sustrato TMB inicia una reacción cinética que termina al agregar la solución de parada. Tanto el sustrato como la solución de parada deben agregarse en la misma secuencia para evitar diferentes tiempos de reacción.
- Observar las directrices para la ejecución del control de calidad en los laboratorios clínicos al comprobar controles y/o pool de sueros.
- Observar la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.

- No use muestras con contaminación microbiana, altamente lipémicas o hemolizadas.
- Los lectores de microplacas leen las DO verticalmente, por tanto no debe tocarse el fondo de los pocillos.

6. PROCEDIMIENTO

6.1. Preparación de los estándares (S₀...S₆)

Los estándares, calibrados frente a WHO 2^o IRP 80/558, tienen aproximadamente las siguientes concentraciones:

	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆
mIU/L	0	0,2	0,5	2,5	5,0	10	20

Una vez abiertos, los estándares permanecen estables 6 meses a 2-8°C.

6.2. Preparación de la solución de lavado

Antes del uso, diluir el contenido de cada ampolla de solución de lavado tamponada concentrada (50x) con agua destilada hasta un volumen de 1000 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 1:50. La solución de lavado diluida se mantiene estable a 2-8°C durante al menos 30 días.

6.3. Preparación de la muestra

La determinación de TSH puede realizarse en suero o plasma humano.

Si la prueba no se realiza en un plazo de dos días desde la extracción, conservar la muestra a -20°C.

Para almacenamientos largos, congelar las muestras. Las muestras congeladas deben agitarse bien tras descongelarse y antes de la dosificación. No volver a congelar las muestras una vez descongeladas.

Para muestras con una concentración superior a 20 mIU/L, diluir 1/1 la muestra con estándar 0. Corregir el resultado usando el factor de dilución correspondiente.

6.4. Procedimiento

Dejar todos los reactivos a temperatura ambiente unos minutos antes del uso.

Reactivo	Estándar	Muestra /Control	Blanco
Estándares S ₀ -S ₆	50 µL		
Muestra /Control		50 µL	
Conjugado	100 µL	100 µL	
Cubrir la placa y incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente (22±28°C). Para aumentar la sensibilidad, prolongar el tiempo de incubación a 120 minutos. Aspirar y lavar los pocillos seis veces con 300 µL de solución de lavado diluida.			
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Cubrir la placa y incubar 20 minutos a temperatura ambiente (22±28°C). Protegida de la luz.			
Solución de parada	100 µL	100 µL	100 µL
Agitar con cuidado para mezclar las soluciones. Leer la absorbancia a 450 nm frente al blanco.			

7. CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe analizar las muestras a niveles de los rangos bajo, medio y alto de TSH para supervisar el rendimiento del análisis. Estas muestras deben tratarse como desconocidas y los valores deben determinarse en cada ensayo realizado. Se deben mantener los gráficos de control de calidad para seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Se deben emplear métodos estadísticos adecuados para determinar las tendencias. El laboratorio debe establecer los límites de aceptabilidad del rendimiento del análisis. Además, la capacidad de absorción máxima debe ser constante con la experiencia anterior. Desviaciones significativas del rendimiento establecido pueden indicar un cambio inadvertido en las condiciones experimentales o la degradación de los reactivos del kit. Se deben usar reactivos frescos para determinar la causa de las variaciones.

7.1. Interpretación de los resultados

Si para calcular los resultados se ha usado el ordenador, es imprescindible que los valores de los calibradores se encuentren dentro del 10% de las concentraciones asignadas.

8. RESULTADOS

8.1. Absorbancia media

Calcular la absorbancia media (Em) de cada punto de la curva estándar (S₀ - S₆) y de cada muestra.

8.2. Curva estándar

Trazar en el gráfico de las absorbancias los valores calculados de las absorbancias medias (Em) de cada estándar (S₀ - S₆) en función de las concentraciones. Trazar la curva de ajuste óptimo para los puntos estándar (p. ej.: modelo spline cúbico o modelo logístico de 4 parámetros).

8.3. Cálculo de los resultados

Interpolar a la curva las concentraciones de TSH correspondientes al control y a las muestras.

9. VALORES DE REFERENCIA

Las muestras de suero en mujeres y hombres sanos se han analizado utilizando el TSH IEMA TEST con los siguientes resultados:

	Media (mIU/L)	Rango (mIU/L)
TSH	1,85	0,39 - 6,16

10. PARÁMETROS CARACTERÍSTICOS

10.1. Precisión

10.1.1. Intraensayo

La variabilidad dentro del mismo kit se ha determinado replicando (16x) la medición de dos sueros de control distintos. La variabilidad intraensayo es ≤ 4,6%.

10.1.2. Interensayo

La variabilidad entre distintos kits se ha determinado replicando (12x) la medición de tres sueros de control

distintos con kits pertenecientes a lotes distintos. La variabilidad interensayo es $\leq 10,8\%$.

10.2. Exactitud

La prueba de recuperación realizada en muestras enriquecidas con 0,25 – 2,5 – 10 mIU/L de TSH ha dado un valor medio (\pm SD) de $88,85\% \pm 2,62\%$.

10.3. Sensibilidad

Tomando como base los resultados de la determinación del valor del estándar cero de 16 réplicas, la concentración mínima medible con este método es de 0,01 mIU/L con un límite de confianza del 95%.

10.4. Especificidad

La reactividad cruzada de la tirotropina ELISA a las sustancias seleccionadas se estimó mediante la adición de sustancias interferentes al suero en concentraciones distintas. La reactividad cruzada se calculó evaluando la relación entre la dosis de la sustancia interferente y la cantidad de TSH necesaria para producir la misma absorbancia.

Tirotropina (hTSH)	100 %
Tirotropina - alfa (hTSH- α)	9,3 %
Tirotropina - beta (hTSH- β)	152 %
Folitropina (hFSH)	1,0 %
Hormona luteinizante (hLH)	1,0 %
Gonadotropina coriónica (hCG)	<0,1 %

10.5. Correlación con otros métodos

El kit TSH (Diametra) se ha comparado con dos kits distintos disponibles en el mercado. Se han comprobado 54 muestras de suero. Las curvas de regresión son:

$$(\text{TSH Diametra}) = 0,96 * (\text{TSH CLIA}) + 0,06$$

$$r^2 = 0,972$$

$$(\text{TSH Diametra}) = 0,87 * (\text{TSH Elisa}) + 0,29$$

$$r^2 = 0,971$$

10.6. Efecto gancho

En este método no se ha observado efecto gancho hasta 500 mIU/L.

11. DISPOSICIONES PARA LA ELIMINACIÓN

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con las leyes locales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hopton M. R, et al *Clinical Chemistry*, 32, 691 (1986)
2. Caldwell, G. et al. *Lancet*, I, 1117, (1985)
3. Young, D. S, et al *Clinical Chemistry* 21, 3660 (1975)
4. Spencer, CA, et al *Clinical Chemistry* 41, 367 (1995)
5. Beck-Peccoz P, et al *Eur. J. Endocrinol* 131: 331-340 (1994)
6. Bravemann, L. E, *Clinical Chemistry* 42: 174-181 (1996)
7. Fisher, D. A., *Clinical Chemistry* 42: 135-139 (1996)

Ed. 06/2011

DCM013-8

DiaMetra S.r.l. Headquater: Via Garibaldi, 18 – 20090 SEGRATE (MI) Italy
Tel. 0039-02-2139184 – 02-26921595
Fax 0039-02-2133354.

Manufactory: via Giustozzi 35/35a – Z.I Paciana – 06034 FOLIGNO (PG) Italy
Tel. 0039-0742-24851
Fax 0039-0742-316197
E-mail: info@diametra.com

	DIA.METRA SRL	
<i>Mod. PIS</i>	PACKAGING INFORMATION SHEET	

IT*Spiegazione dei simboli***GB***Explanation of symbols***FR***Explication des symboles***ES***Significado de los símbolos***DE***Verwendete Symbole***PT***Explicação dos símbolos*

	DE In vitro Diagnostikum ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro FR Dispositif medical de diagnostic in vitro GB In vitro Diagnostic Medical Device IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro PT Dispositivos medicos de diagnostico in vitro		DE Hergestellt von ES Fabricante FR Fabriqué par GB Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
REF	DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Références du catalogue GB Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricación FR Date de fabrication GB Date of manufacture IT Data di produzione PT Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE Verwendbar bis ES Estable hasta (usar antes del último día del mes) FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) GB Use by (last day of the month) IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) PT Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE Biogefährdung ES Riesgo biológico FR Risque biologique GB Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
 	DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consultar las instrucciones de uso FR Consulter le mode d'emploi GB Consult instructions for use IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso	LOT	DE Chargenbezeichnung ES Código del lote FR Numero de lot GB Batch code IT Codice del lotto PT Codigo do lote
 $\Sigma = xx$	DE Ausreichend für "h" Tests ES Contenido suficiente para "h" ensayos FR Contenu suffisant pour "h" tests GB Contains sufficient for "h" tests IT Contenuto sufficiente per "h" saggi PT Contém o suficiente para "h" testes	Cont.	DE Inhalt ES Contenido del kit FR Contenu du coffret GB Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Límites de temperatura FR Limites de température de conservation GB Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		

	DIA.METRA SRL	
<i>Mod. PIS</i>	PACKAGING INFORMATION SHEET	

**SUGERENCIAS PARA LA SOLUCIÓN DE PROBLEMAS/TROUBLESHOOTING
ERROR / POSIBLES CAUSAS / SUGERENCIAS**

No se produce ninguna reacción colorimétrica del ensayo

- no se ha dispensado el conjugado
- contaminación del conjugado y/o del sustrato
- errores en la ejecución del ensayo (p. ej., dispensación accidental de los reactivos en orden incorrecto o procedentes de frascos equivocados, etc.)

Reacción escasa (DO demasiado bajas)

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado corto, temperatura de incubación demasiado baja

Reacción demasiado intensa (DO demasiado altas)

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado largo, temperatura de incubación demasiado alta
- calidad escasa del agua usada para la solución de lavado (bajo grado de desionización)
- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

Valores inexplicablemente fuera de escala

- contaminación de pipetas, puntas o contenedores- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

CV% intraensayo elevado

- los reactivos y/o tiras no se encontraban a temperatura ambiente antes del uso
- el lavador de microplacas no funciona correctamente (sugerencia: limpiar el cabezal del lavador)

CV% interensayo elevado

- condiciones de incubación no constantes (tiempo o temperatura)
- controles y muestras no dispensados al mismo tiempo (con los mismos intervalos) (controlar la secuencia de dispensación)
- variación en función de los operadores

ERROR POSSIBLE CAUSES / SUGGESTIONS

No colorimetric reaction

- no conjugate pipetted reaction after addition
- contamination of conjugates and/or of substrate
- errors in performing the assay procedure (e.g. accidental pipetting of reagents in a wrong sequence or from the wrong vial, etc.)

Too low reaction (too low ODs)

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too short, incubation temperature too low

Too high reaction (too high ODs)

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too long, incubation temperature too high
- water quality for wash buffer insufficient (low grade of deionization)
- insufficient washing (conjugates not properly removed)

Unexplainable outliers

- contamination of pipettes, tips or containers
- insufficient washing (conjugates not properly removed) too high within-run
- reagents and/or strips not pre-warmed to CV% Room Temperature prior to use
- plate washer is not washing correctly (suggestion: clean washer head)
- too high between-run - incubation conditions not constant (time, CV % temperature)
- controls and samples not dispensed at the same time (with the same intervals) (check pipetting order)
- person-related variation