



IVD

CE

TSH-IRMA

KIP1891 - KIP1894

Version : 230123

Date of issue : 23/01/2023

Revision date: 23/01/2023

History

Summary of change:

Current Version: 230123
New logo

Read entire protocol before use.

TSH-IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the in vitro quantitative measurement of human Thyroid Stimulating Hormone (TSH) in serum and plasma.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name :** DIAsource TSH-IRMA Kit
- B. Catalog number :** KIP1891 : 96 tests
KIP1894: 4 x 96 tests
- C. Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CLINICAL BACKGROUND

Thyrotrope cells of the anterior pituitary synthesize and secrete human thyroid stimulating hormone (TSH), a glycoprotein of molecular weight 28,000 Da, comprising two subunits : α -TSH is very similar to a α subunit of LH, FSH and hCG, β -TSH differs from other hormone subunits and defines the immunological specificity.


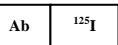
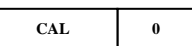
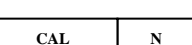

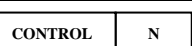
TSH regulates the synthesis and release of thyroid hormones : thyroxin (T4) and triiodothyronine (T3). TSH secretion is stimulated by an hypothalamic peptide, TRH (TSH releasing hormone); a negative feedback on TSH secretion is exerted by T3 and T4.

Primary hyperthyroidism is now easily differentiated from euthyroidism by DIAsource ultrasensitive TSH-Irma, because of the high sensitivity (0.025 μ IU/ml) and high discrimination power.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIASource TSH-IRMA is an immunoradiometric assay based on coated tube separation. Mabs1, the capture antibodies, are attached to the lower and inner surface of the plastic tube. Calibrators or samples added to the tubes will at first show low affinity for Mabs1. Addition of Mab2, the signal antibody labelled with ¹²⁵I, will complete the system and trigger the immunological reaction. After washing, the remaining radioactivity bound to the tube reflects the antigen concentration. The use of several distinct Mabs avoids hyperspecificity.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 tests Kit	4 x 96 tests Kit	Colour Code	Reconstitution
 Tubes coated with anti TSH (monoclonal antibodies)	2 x 48	8 x 48	yellow	Ready for use
 Anti-TSH- ¹²⁵ I (monoclonal antibodies) in TRIS maleate buffer with bovine serum albumin, azide (<0.1%), EDTA and inert red dye	1 vial 5.5 ml 700 kBq	4 vials 5.5 ml 4x700 kBq	red	Ready for use
 Calibrator 0 in bovine serum with thymol	1 vial lyophil.	2 vials lyophil.	yellow	Add 2.0 ml distilled water
 Calibrators 1 -7 in horse serum with thymol (see exact value on vial labels)	7 vials lyophil.	14 vials lyophil.	yellow	Add 2.0 ml distilled water
 Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	4 vials 10 ml	brown	Dilute 70x with distilled water (use a magnetic stirrer).
 Controls 1 and 2 in human plasma and thymol	2 vials lyophil.	4 vials lyophil.	silver	Add 1 ml distilled water

Note: 1 µIU of the calibrator is equivalent to 1 µIU of the 2nd IRP 80/558

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

1. Distilled water
2. Pipettes for delivery of: 50 µl, 200 µl, 1 ml and 2 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
3. Vortex mixer
4. Magnetic stirrer
5. Tubes shaker (700 rpm)
6. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
7. Aspiration system (optional)
8. Any gamma counter capable of measuring ¹²⁵I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- A. Calibrators** : Reconstitute the calibrators 0-7 with 2.0 ml distilled water.
- B. Controls** : Reconstitute the controls with 1 ml distilled water.
- C. Working Wash solution** : Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the vial label, if kept at 2 to 8°C.

- After reconstitution, calibrators and controls are stable for 8 days at 2 to 8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximum 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Serum and plasma must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 24 h., storage in aliquots at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Serum or plasma (EDTA or heparine) provide similar results.

$$Y(\text{serum}) = 1.02x(\text{hep. plasma}) - 0.06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y(\text{serum}) = 1.00x(\text{EDTA plasma}) + 0.05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. PROCEDURE

A. Handling notes

Do not use the kit or components beyond expiry date. Do not mix materials from different kit lots. Bring all the reagents to room temperature prior to use. Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling. In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision. Respect the incubation times. Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

B. Procedure

1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For determination of total counts, label 2 normal tubes.
2. Briefly vortex calibrators, controls, samples and dispense 200 µl of each into the respective tubes.
3. Dispense 50 µl of anti-TSH-¹²⁵I tracer into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
4. Shake the rack containing the tubes gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
5. Incubate for 2 hours at room temperature on a shaker at 700 ± 100 rpm.
6. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
7. Wash tubes with 2 ml Working Wash solution (except total counts). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
8. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts).
9. Wash tubes again with 2 ml Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant).
10. After the last washing, let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
11. Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. On semi logarithmic or linear graph paper plot the c.p.m. (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of TSH (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points, reject the obvious outliers.
3. Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve.
4. Computer assisted data reduction will simplify these calculations. If automatic result processing is to be used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

TSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		359316	100
Calibrator	0.00 µIU/ml	123	0.03
	0.10 µIU/ml	572	0.16
	0.53 µIU/ml	1834	0.51
	1.54 µIU/ml	5284	1.47
	4.90 µIU/ml	16365	4.55
	14.00 µIU/ml	45387	12.63
	48.00 µIU/ml	122595	34.12
	90.00 µIU/ml	184397	51.32

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection limit

The Limit of Blank (LoB), Limit of Detection (LoD), and the Limit of Quantitation (LoQ), were determined in accordance with the CLSI guideline EP17-A.

The LoB was calculated by measuring the blank several times and calculating the 95th percentile of the distribution of the test values. The LoB was calculated to be 0.05 µIU/ml.

The LoD was calculated as described in the guideline. The LoD was calculated to be 0.09 µIU/ml.

The LoQ was calculated by testing 5 samples of low value 14 times in different test. The LoQ was calculated to be 0.12µIU/ml with CV of 20%.

B. Specificity

Cross-reacting hormones were added to a low and to a high TSH value calibrator. The apparent TSH response was measured.

added Hormone	TSH CAL 1 µIU/ml	TSH CAL 2 µIU/ml
-	0.09	49.00
LH 300 mIU/ml	0.80	47.86
FSH 300 mIU/ml	0.19	44.58
hCG 300000 mIU/ml	6.36	48.48

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	Replicate	<X> ± SD (µIU/ml)	CV (%)	Serum	Replicate	<X> ± SD (µIU/ml)	CV (%)
A	10	0.26 ± 0.02	6.0	A	20	1.34 ± 0.06	4.1
B	10	1.82 ± 0.03	1.4	B	20	13.69 ± 0.29	2.1
C	10	33.95 ± 0.20	0.6				

SD : Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST

Sample	Added TSH (µIU/ml)	Recovered TSH (µIU/ml)	Recovery (%)
Sample1			
Serum	105	107	102
Hep. plasma	105	105	100
EDTA plasma	105	107	102
Sample2			
Serum	0.62	0.65	105
Hep. plasma	0.62	0.63	102
EDTA plasma	0.62	0.65	105

DILUTION TEST			
Sample	Dilution	Theoretical Concent. (µIU/ml)	Measured Concent. (µIU/ml)
1	1/1	71.64	71.64
	1/2	35.82	35.66
	1/4	17.91	17.35
	1/8	8.95	8.42
	1/16	4.48	4.44
	1/32	2.24	2.17
	1/64	1.12	0.95
	1/128	0.56	0.51
	1/256	0.28	0.19
	1/512	0.14	0.08

Samples were diluted with zero calibrator.

E. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 30 minutes after the calibrator has been added to the coated tubes.

TIME DELAY				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (µIU/ml)	0.17	0.16	0.15	0.16
S 2 (µIU/ml)	34	34	34	36

F. Hook-effect

A sample spiked with 2500 µIU/ml gives a result higher than the last calibration point.

XIV. LIMITATIONS

- Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits which employ mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with in vitro immunoassays. Patients routinely exposed to animals or animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed in case of the presence of heterophilic antibodies. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies. If results are not consistent with other clinical observations, additional information should be required before diagnosis.

XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises

XVI. REFERENCE INTERVALS

These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

Identification	Number of subjects	Range (µIU/ml)
Euthyroidism	216	0.2 – 3.2
Hyperthyroidism	59	< 0.01 - 0.09
Hypothyroidism	26	6.3- 158

XVII. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For *in vitro* diagnostic use only.

This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days) emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVIII. BIBLIOGRAPHY

1. BAYER M.F., KRISSE J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic Implication.
J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
2. CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
Lancet 1985,i: 1117-9
3. FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
4. MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.
High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.
Br. Med. J. 1985: 290:335-356.
5. MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
Clin. Chem. 1984;30:329
6. PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
In the thyroid., S. Wemer and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
7. RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSSSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
Lancet 1985; i: 277-8
8. ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
Ann. Intern. Med. 1986; 104:718-21
9. PETER S.A. et al.
Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).
Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6);346-9

10. JAIMELA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
Clin. Chem. 1994, Jan;40(1);101-105
11. KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
12. ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S) CONTROLS ml
Calibrators (0-7)	-	0.2	-
Samples, Controls	-	-	0.2
Tracer	0.05	0.05	0.05
Incubation	2 hours at RT with continous shaking		
Separation	-	aspirate (or decant)	
Working Wash solution	-	2.0	
Separation	-	aspirate (or decant)	
Working Wash solution	-	2.0	
Separation	-	aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

Other translations of this Instruction for Use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

TSH-IRMA

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunométrique pour la mesure quantitative *in vitro* de l'Hormone Thyroïdienne (TSH) dans le sérum et le plasma humain.

II. INFORMATIONS GÉNÉRALES

- A. **Nom du produit :** DIAsource TSH-IRMA kit
- B. **Numéro de catalogue :** KIP1891 : 96 tests
KIP1894 : 4 x 96 tests
- C. **Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CONTEXTE CLINIQUE

Des cellules thyrotropes de la pituitaire antérieure synthétisent et sécrètent l'hormone thyroïdienne humaine (TSH), une glycoprotéine avec un poids moléculaire de 28,000 Da qui contient deux sous-unités : l' α -TSH ressemble beaucoup à une α sous-unité de LH, FSH et hCG, la β -TSH est différente des autres sous-unités hormonales et détermine la spécificité immunologique.


La TSH régule la synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes : la thyroxine (T4) et la triiodothyronine (T3). La sécrétion de la TSH est stimulée par un peptide hypothalamique, la TRH (la thyroïdolibérine); la T3 et la T4 exercent un feedback négatif sur la sécrétion de la TSH.

Maintenant l'hyperthyroïdisme primaire est différencié facilement de l'euthyroïdisme par la TSH-Irma ultrasensible de DIAsource, grâce à la grande sensibilité (0.025 μ IU/ml) et la grande capacité de discrimination.

IV. PRINCIPE DU DOSAGE

La trousse DIASource TSH-IRMA est une trousse de dosage radio-immunométrique basée sur la séparation en tube recouvert d'anticorps. Mabs1, les anticorps de capture, sont attachés sur la surface basse et interne du tube plastic. Les calibrateurs ou les échantillons ajoutés dans les tubes présenteront dans un premier temps une faible affinité pour Mabs1. L'addition de Mab2, l'anticorps signal marqué avec l'¹²⁵I, complètera le système et déclenchera la réaction immunologique. Suite au lavage, la radioactivité restante liée au tube reflètera la concentration de l'antigène. L'utilisation de plusieurs Mabs différents évite l'hyperspécificité, commune aux IRMA deux-sites.

V. REACTIFS FOURNIS

Reactifs	96 tests Kit	4x96 tests Kit	Code Couleur	Reconstitution			
 Tubes recouverts avec l'anti TSH (anticorps monoclonal)	2 x 48	8 x 48	Jaune	Prêt à l'emploi			
<table border="1" data-bbox="103 705 247 739"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACEUR: TSH marquée à l' ¹²⁵ Iodine (grade HPLC) dans un tampon TRIS-maléate avec de l'albumine bovine, de l'azide de sodium (<0,1%), EDTA et un colorant rouge inactif	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 5,5 ml 700 kBq	4 flacons 5,5 ml 4x700 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1" data-bbox="103 907 231 940"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrateur 0 dans du sérum bovin et du thymol	CAL	0	1 flacon lyophilisés	2 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 2 ml d'eau distillée	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="103 1019 231 1052"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrateur N = 1 à 7 (cfr. Valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum de cheval et du thymol	CAL	N	7 flacons lyophilisés	14 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 2 ml d'eau distillée	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="71 1187 263 1220"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solution de Lavage (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	Brun	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="87 1310 247 1344"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Contrôles - N = 1 ou 2 dans du plasma humain et du thymol	CONTROL	N	2 flacons lyophilisés	2 x 2 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 1 ml d'eau distillée	
CONTROL	N						

Note: 1 µIU de la préparation du calibrateur est équivalent à 1 µIU du 2nd IRP 80/558

VI. MATERIEL NON FOURNI

Le matériel mentionné ci-dessous est requis mais non fourni avec la trousse:

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer: 50 µl, 200 µl, 1 ml et 2 ml (l'utilisation de pipettes précises et de pointes en plastique est recommandée)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Agitateur de tubes (700 rpm)
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d'aspiration (optionnel)
- Tout compteur gamma capable de mesurer l'¹²⁵I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

- Calibrateurs** : Reconstituer les calibrateurs avec 2,0 ml d'eau distillée.
- Contrôles** : Reconstituer les contrôles avec 1,0 ml d'eau distillée.
- Solution de Lavage** : Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date d'expiration, indiquée sur l'étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Après reconstitution, les calibrateurs et les contrôles sont stables pendant 8 jours entre 2 et 8°C. Pour de plus longues périodes de stockage, des aliquots devront être réalisés et ceux-ci seront gardés à -20°C pendant 3 mois au maximum.
- La Solution de Lavage préparée doit être utilisée le jour même.
- Après la première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration, si celui-ci est conservé entre 2 et 8°C dans le flacon d'origine correctement fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons de sérum ou de plasma doivent être gardés entre 2 et 8°C.
- Si le test n'est pas réalisé dans les 24 heures, un stockage des aliquots à -20°C est recommandé.
- Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- Le sérum ou le plasma donne des résultats similaires

$$Y(\text{sérum}) = 1.02x(\text{hep. plasma}) - 0.06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y(\text{sérum}) = 1.00x(\text{EDTA plasma}) + 0.05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. MODE OPERATOIRE

A. Notes de manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d'expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousses de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante avant utilisation.

Mélangez tous les réactifs et les échantillons sous agitation douce. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette pour l'addition de chaque réactif et échantillon.

Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d'augmenter la précision. Respecter les temps d'incubation.

Préparer une courbe d'étalonnage pour chaque nouvelle série d'expériences, ne pas utiliser les données d'expériences précédentes.

B. Mode opératoire

- Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse, en double pour chaque calibrateur, contrôle, échantillon. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts d'anticorps.
- Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Puis distribuer 200 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.
- Distribuer 50 µl de traceur dans chaque tube.
- Agiter légèrement le portoir de tube manuellement pour libérer toute bulle d'air emprisonnée.
- Incuber pendant 2 heures à température ambiante sous agitation continue (700 ± 100 rpm).
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
- Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale).
- Laver les tubes à nouveau avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer (ou décanter).
- Après le dernier lavage, laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer (ou décanter) le reste de liquide.
- Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Dessiner sur un graphique linéaire ou semi-logarithmique les cpm (ordonnées) pour chaque calibrateur contre la concentration correspondante en TSH (abscisses) et dessiner une courbe de calibration à l'aide des points de calibration, écarter les valeurs aberrantes.

- Lire la concentration pour chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe de calibration.
- L'analyse informatique des données simplifiera les calculs. Si un système d'analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.

XII. DONNEES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont fournies pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d'une courbe de calibration.

TSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		359316	100
Calibrateur	0,00 µIU/ml	123	0,03
	0,10 µIU/ml	572	0,16
	0,53 µIU/ml	1834	0,51
	1,54 µIU/ml	5284	1,47
	4,90 µIU/ml	16365	4,55
	14,00 µIU/ml	45387	12,63
	48,00 µIU/ml	122595	34,12
	90,00 µIU/ml	184397	51,32

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

A. Sensibilité

La limite du blanc (LoB), la limite de détection et la limite de quantification (LoQ) ont été déterminées en suivant la directive CLSI EP17-A.

La LoB a été calculée en mesurant le blanc plusieurs fois et en calculant le percentile 95 de la distribution des valeurs d'analyse. La LoB calculée est de 0.05 µIU/mL.

La LoD a été calculée comme décrit dans la directive. La LoD calculée est de 0.09 µIU/mL.

La LoQ a été calculée en testant 14 fois dans des analyses différentes 5 échantillons ayant une valeur faible. La LoQ calculée est de 0.12 µIU/mL avec un CV de 20%.

B. Spécificité

Des hormones cross-réactives ont été ajoutées à un calibrateur avec une valeur de TSH haute, et à un calibrateur avec une valeur basse. La réponse TSH apparente a été mesurée.

Hormone ajoutée	TSH CAL 1 µIU/ml	TSH CAL 2 µIU/ml
-	0,09	49,00
LH 300 mIU/ml	0,80	47,86
FSH 300 mIU/ml	0,19	44,58
hCG 300000 mIU/ml	6,36	48,48

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (µIU/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (µIU/ml)	CV (%)
A	10	0,26 ± 0,02	6,0	A	20	1,34 ± 0,06	4,1
B	10	1,82 ± 0,03	1,4	B	20	13,69 ± 0,29	2,1
C	10	33,95 ± 0,20	0,6				

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RECUPERATION

Echantillon	TSH ajoutée (µIU/ml)	TSH récupérée (µIU/ml)	Récupération (%)
Echantillon 1			
Sérum	105	107	102
Hep. plasma	105	105	100
EDTA plasma	105	107	102
Echantillon 2			
Sérum	0,62	0,65	105
Hep. plasma	0,62	0,63	102
EDTA plasma	0,62	0,65	105

TEST DE DILUTION

Echantillon	Dilution	Concent. théorique (µIU/ml)	Concent. Mesurée (µIU/ml)
1	1/1	71,64	71,64
	1/2	35,82	35,66
	1/4	17,91	17,35
	1/8	8,95	8,42
	1/16	4,48	4,44
	1/32	2,24	2,17
	1/64	1,12	0,95
	1/128	0,56	0,51
	1/256	0,28	0,19
	1/512	0,14	0,08

Les échantillons ont été dilués avec le calibrateur zéro.

E. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l'échantillon

Comme montré ci-dessous, les résultats d'un essai restent précis même quand un échantillon est distribué 30 minutes après que le calibrateur ait été ajouté aux tubes avec l'anticorps.

DELAI				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (µIU/ml)	0,17	0,16	0,15	0,16
S 2 (µIU/ml)	34	34	34	36

F. Effet crochet

Un échantillon dopé avec du TSH jusqu'à 2500 µIU/ml donne des cpm supérieurs au dernier point de calibration.

XIV. LIMITATIONS

- Les échantillons de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris pour un diagnostic ou comme traitement peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent montrer des valeurs soit faussement élevées soit faussement basses lorsqu'ils sont analysés avec des trousse d'analyses utilisant des anticorps monoclonaux de souris.
- Des anticorps hétérophiles dans le sérum humain peuvent réagir avec le réactif immunoglobulines, interférant ainsi avec les méthodes d'analyse immunologiques in vitro. Les patients couramment en contact avec des animaux ou des produits de sérum animal peuvent être sujets à ces interférences. Des valeurs anormales peuvent être observées en cas de présence d'anticorps hétérophiles. Évaluer soigneusement les résultats des patients suspectés d'avoir ces anticorps. Si les résultats ne sont pas cohérents avec les autres observations cliniques, des informations supplémentaires doivent être demandées avant de poser le diagnostic.

XV. CÔNTROLE QUALITE INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le(s) contrôle(s) 1 et/ou 2 ne sont pas dans l'intervalle spécifié sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l'on ait donné une explication satisfaisante de la non-conformité.
- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d'échantillons contrôles, lesquels doivent être congelés aliquotés.
- Les critères d'acceptation pour les écarts des valeurs en double des échantillons doivent être basés sur les pratiques de laboratoire courantes.

XVI. VALEURS ATTENDUES

Les valeurs sont données à titre d'information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.

Identification	Nombre de sujets	portée (µIU/ml)
Euthyroidisme	216	0,2 – 3,2
Hyperthyroidisme	59	< 0,01 - 0,09
Hypothyroidisme	26	6,3- 158

XVII. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.

Cette trousse contient de ^{125}I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.

Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.

Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.

L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVIII. BIBLIOGRAPHIE

1. BAYER M.F., KRISS J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic Implication.
J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
2. CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
Lancet 1985,i: 1117-9
3. FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
4. MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.
High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.
Br. Med. J. 1985: 290:335-356.
5. MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
Clin. Chem. 1984;30:329
6. PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
In the thyroid., S. Wemer and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
7. RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSSSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
Lancet 1985; i: 277-8
8. ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
Ann. Intern. Med. 1986; 104:718-21
9. PETER S.A. et al.

Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).

Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6);346-9

10. JAIMELA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
Clin. Chem. 1994, Jan;40(1);101-105
11. KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
12. ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (ml)	CALIBRATEURS (ml)	ECHANTILLON(S) CONTROLES (ml)
Calibrateurs (0-7)	-	0,2	-
Echantillons, Contrôles	-	-	0,2
Traceur	0,05	0,05	0,05
Incubation	2 heures à T.A. sous agitation continue		
Séparation	-	Aspiration	
Solution de Lavage	-	2,0	
Séparation	-	aspiration	
Solution de Lavage	-	2,0	
Séparation	-	aspiration	
Comptage	Temps de comptage des tubes: 60 secondes		

Lees het hele protocol vóór gebruik.

TSH-IRMA

I. BEOOGD GEBRUIK

Immunoradiometrische testkit voor de in vitro kwantitatieve bepaling van humaan Schildklierstimulerend Hormoon (TSH) in serum en plasma.

II. ALGEMENE INFORMATIE

- A. Gedeponoerd handelsmerk:** DIAsource TSH-IRMA kit
- B. Catalogusnummer:** KIP1891: 96 testen
KIP1894: 4 x 96 testen
- C. Geproduceerd door:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, België.

Voor technische assistentie of voor bestelinformatie kunt u contact opnemen met:
Tel.: +32 (0)10 84 99 11 - Fax: +32 (0)10 84 99 91

III. KLINISCHE ACHTERGROND

Thyrotrope cellen van het anterieure gedeelte van de hypofyse synthetiseren humaan schildklierstimulerend hormoon (TSH) en scheiden het af. TSH is een glycoproteïne met een moleculair gewicht van 28.000 Da, opgebouwd uit twee subunits : α -TSH is zeer gelijkaardig aan een α subunit van LH, FSH en hCG, β -TSH verschilt van andere hormonale subunits en bepaalt de immunologische specificiteit.


TSH reguleert de synthese en afgave van schildklierhormonen : thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3). De secretie van TSH wordt gestimuleerd door een hypothalamisch peptide, TRH (TSH vrijmakend hormoon); een negatieve feedback op de secretie van TSH wordt uitgeoefend door T3 en T4.

Primair hyperthyroïdisme wordt nu gemakkelijk gedifferentieerd van euthyroïdisme door de ultragevoelige TSH-Irma van DIAsource, dankzij de grote gevoeligheid (0.025 μ IU/ml) en de grote discriminatiecapaciteit.

IV. BESCHRIJVING VAN DE METHODE

TSH-IRMA van DIAsource is een immunoradiometrische bepaling die gebaseerd is op een scheiding aan de hand van een gecoat buisje. Mabs1, de invangantlichamen, zijn onderaan aan het binnenoppervlak van het plastic buisje gehecht. Kalibrators of monsters die toegevoegd worden aan de buisjes zullen aanvankelijk een lage affiniteit vertonen voor Mabs1. Toevoeging van Mab2, het signaalgenererend antilichaam dat gelabeld werd met ¹²⁵I, zal het systeem vervollledigen en de immunologische reactie tweewegbrengen. Na de wasfase geeft de overblijvende radioactiviteit, gebonden aan het buisje, de antigeenconcentratie weer. Door het gebruik van meerdere verschillende Mabs wordt hyperspecificiteit vermeden, die gebruikelijk is voor IRMA met 2 Mabs.

V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	Kit met 96 testen	Kit met 4 x 96 testen	Kleur-code	Reconstitutie			
 buisjes gecoat met anti-TSH (monoklonale antilichamen)	2 x 48	8 x 48	geel	Klaar voor gebruik			
<table border="1" data-bbox="87 716 231 761"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> TRACER: Anti-TSH (monoklonale antilichamen) gelabeld met ¹²⁵ Jood in TRIS maleate buffer met bovien serumalbumine, azide (< 0,1%), EDTA en een inerte rode kleurstof	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 5,5 ml 700 kBq	4 flacons 5,5 ml 4x700 kBq	rood	Klaar voor gebruik	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1" data-bbox="87 929 231 974"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Kalibrator 0 in runderserum en thymol	CAL	0	1 flacon gevries-droogd	2 flacons, gevries-droogd	geel	2 ml gedestilleerd water toevoegen	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="87 1030 231 1075"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibrator - N = 1 tot 7 (raadpleeg de flaconetiketten voor de exacte waarden) in paardenserum en thymol	CAL	N	7 flacons, gevries-droogd	14 flacons, gevries-droogd	geel	2 ml gedestilleerd water toevoegen	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="71 1187 263 1232"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Wasoplossing (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	bruin	70 x met gedestilleerd water verdunnen (gebruik een magnetische roerder).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="71 1344 231 1388"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Controles - N = 1 of 2 in humaan plasma en thymol	CONTROL	N	2 flacons, gevries-droogd	2 x 2 flacons, gevries-droogd	zilver	1 ml gedestilleerd water toevoegen	
CONTROL	N						

Opmerking: 1 µIE van de kalibratorbereiding is gelijk aan 1 µIE van de 2nd IRP 80/558.

VI. NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

De volgende materialen zijn noodzakelijk maar worden niet meegeleverd met de kit:

- Gedestilleerd water.
- Pipetten voor een volume van 50 µl, 200 µl, 1 ml en 2 ml (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic wegwerptips wordt aanbevolen).
- Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) voor de wasfase.
- Afzuigsysteem (facultatief).
- Vortexmenger.
- Magnetische roerder.
- Schudder voor de buisjes (700 rpm)
- Een gammateller die geschikt is voor de bepaling van ¹²⁵I (rendement van ten minste 70%).

VII. BEREIDING VAN HET REAGENS

- Kalibrators:** Reconstitueer de kalibratoren met 2,0 ml gedestilleerd water.
- Controles:** Reconstitueer de controles met 1,0 ml gedestilleerd water.

- Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedestilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing (70 x).
Gebruik een magnetische roerder voor de homogenisering. Op het eind van de dag moet de ongebruikte werk-wasoplossing afgevoerd worden.

VIII. OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA

- Vóór opening of reconstitutie zijn alle kitcomponenten houdbaar tot de vervaldatum, zoals vermeld op het etiket, indien zij bewaard werden bij 2 tot 8°C.
- Na reconstitutie zijn de kalibrators en de controles gedurende 8 dagen houdbaar bij 2 tot 8°C. Voor een langere bewaartermijn moeten aliquots gemaakt worden, die bij -20°C bewaard moeten worden gedurende maximum 3 maanden. Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en ontdooien
- Een vers bereide werk-wasoplossing moet op dezelfde dag nog gebruikt worden.
- Na het eerste gebruik is de tracer houdbaar tot de vervaldatum, indien bewaard bij 2 tot 8°C in de oorspronkelijke, goed afgesloten flacon.
- Wijzigingen in het fysieke aspect van kitreagentia kunnen wijzen op instabiliteit of op een kwaliteitsvermindering.

IX. MONSTERAFNAME EN MONSTERBEREIDING

- Serum en plasma moeten bij 2 tot 8°C bewaard worden.
- Indien de bepaling niet binnen 24 uur uitgevoerd wordt, dan wordt aanbevolen om ze, in aliquots, bij -20°C te bewaren.
- Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en ontdooien
- Serum en plasma leveren vergelijkbare resultaten op

$$Y(\text{serum}) = 1.02x(\text{hep. plasma}) - 0.06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y(\text{serum}) = 1.00x(\text{EDTA plasma}) + 0.05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. PROCEDURE

A. Opmerkingen bij de procedure

Gebruik de kit of de componenten niet langer dan de aangegeven vervaldatum. Materialen van kits van verschillende loten mogen niet gemengd worden. Laat alle reagentia op kamertemperatuur komen vóór gebruik.

Meng alle reagentia en monsters goed door ze voorzichtig te bewegen of door er voorzichtig mee te draaien. Om kruisbesmetting te vermijden, moet een propere wegwerpbare pipettip gebruikt worden voor toevoeging van elk reagens en monster.

Pipetten met een grote precisie of geautomatiseerde pipetteapparatuur zullen de precisie verhogen. Respecteer de incubatietijden.

Bereid een kalibratiecurve voor elke run; men mag geen gegevens gebruiken van voorafgaande runs.

B. Procedure

- Etiketeer de gecoate buisjes in duplo voor elke kalibrator, voor elk monster, voor elke controle. Etiketeer 2 normale buisjes voor de bepaling van de totaal tellingen.
- Vortex de kalibrators, monsters en controles gedurende korte tijd en pipetteer 200 µl van elk in het desbetreffende buisje.
- Pipetteer 50 µl van de tracer in elke buisje.
- Schud het rek met de buisjes voorzichtig met de hand zodat eventueel ingesloten luchtballen vrijkomen.
- Incubeer gedurende 2 uur bij kamertemperatuur terwijl er voortdurend mee geschud wordt (700 ± 100 rpm).
- Zuig de inhoud van elk buisje (met uitzondering van de totaal tellingen) op (of decanteer). Zorg ervoor dat de plastic tip van de aspirator tot aan de bodem van het gecoat buisje komt zodat alle vloeistof verwijderd wordt.
- Was de buisjes met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaal tellingen). Vermijd schuimvorming tijdens toevoeging van de werk-wasoplossing.
- Zuig de inhoud van elk buisje (met uitzondering van de totaal tellingen) op (of decanteer).
- Was de buisjes nogmaals met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaal tellingen) en zuig op (of decanteer).
- Na de laatste wasfase moeten de buisjes gedurende twee minuten rechtop blijven staan en zuig daarna de overblijvende vloeistof op.
- Tel de buisjes in een gammateller gedurende 60 seconden.

XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

- Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.

- Zet de cpm (ordinaat) uit voor elke kalibrator tegen de overeenkomstige TSH -concentratie (abscis) op semi-logaritmisch of lineair millimeterpapier en teken een kalibratiecurve door de kalibratiepunten, waarbij de duidelijke uitschieters verworpen worden.
- Lees door interpolatie de concentratie voor elke controle en voor elk monster op de kalibratiecurve.
- Door computergestuurde gegevensreductie worden deze berekeningen vereenvoudigd.
Indien de resultaten automatisch verwerkt worden, wordt de 4 parameter logistische functie aanbevolen voor de gepaste curve.

XII. KENMERKENDE GEGEVENS

De volgende gegevens dienen enkel ter illustratie en mogen in geen geval gebruikt worden ter vervanging van de real time kalibratiecurve.

TSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Totaaltelling		359316	100
Kalibrator	0,00 µIU/ml	123	0,03
	0,10 µIU/ml	572	0,16
	0,53 µIU/ml	1834	0,51
	1,54 µIU/ml	5284	1,47
	4,90 µIU/ml	16365	4,55
	14,00 µIU/ml	45387	12,63
	48,00 µIU/ml	122595	34,12
	90,00 µIU/ml	184397	51,32

XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

A. Detectielimiet

De grens van Blank (LoB), Detectiegrens (LoD), en de limiet van kwantificering (LOQ), werden bepaald volgens de CLSI-richtlijn EP17-A. De LoB werd berekend door meerdere malen de blanco te testen en van de 95 percentiel van de verdeling van testwaarden te berekenen. De LoB werd berekend tot 0,05 uIU / ml.

LOD werd berekend zoals beschreven in de richtlijn. LOD werd berekend tot 0,09 uIU / ml.

LOQ werd berekend door het testen van 5 stalen met lage waarden 14 keer in verschillende testen. LOQ werd berekend tot 0.12µIU / ml met een CV van 20%.

B. Specificiteit

Kruisreagerende hormonen werden toegevoegd aan kalibrators met lage en hoge waarden. De schijnbare respons van TSH werd gemeten.

Toegevoegd hormoon	TSH CAL 1 µIU/ml	TSH CAL 2 µIU/ml
-	0,09	49,00
LH 300 mIU/ml	0,80	47,86
FSH 300 mIU/ml	0,19	44,58
hCG 300000 mIU/ml	6,36	48,48

C. Precisie

BINNEN EEN TEST				TUSSEN TESTEN			
Serum	N	<X> ± SD (µIU/ml)	VC(%)	Serum	N	<X> ± SD (µIU/ml)	VC (%)
A	10	0,26 ± 0,02	6,0	A	20	1,34 ± 0,06	4,1
B	10	1,82 ± 0,03	1,4	B	20	13,69 ± 0,29	2,1
C	10	33,95 ± 0,20	0,6				

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

RECOVERY –TEST

Monster	Toegevoegd TSH (µIU/ml)	Recovery van TSH (µIU/ml)	Recovery (%)
Monster 1			
Serum	105	107	102
Hep. plasma	105	105	100
EDTA plasma	105	107	102
Monster 2			
Serum	0,62	0,65	105
Hep. plasma	0,62	0,63	102
EDTA plasma	0,62	0,65	105

VERDUNNINGSTEST

Monster	Verdunning	Theoretische concentratie (µIU/ml)	Concentratie die bepaald werd (µIU/ml)
1	1/1	71,64	71,64
	1/2	35,82	35,66
	1/4	17,91	17,35
	1/8	8,95	8,42
	1/16	4,48	4,44
	1/32	2,24	2,17
	1/64	1,12	0,95
	1/128	0,56	0,51
	1/256	0,28	0,19
	1/512	0,14	0,08

De monsters zijn verdund met de nulkalibrator.

F. Tijdsduur tussen de laatste kalibrator en distributie van het monster

Zoals hieronder weergegeven wordt, blijven de resultaten van de bepaling nauwkeurig, zelfs wanneer een monster 30 minuten na toevoeging van de kalibrator in de gecoate buisjes gepipetteerd wordt.

TIJDSPANNE				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (µIE/ml)	0,17	0,16	0,15	0,16
S 2 (µIE/ml)	34	34	34	36

G. "Hook"-effect

Een monster, dat met TSH gespiket werd tot 2500 µIE/ml, levert hogere tellingen op dan het laatste kalibratiepunt.

XIV. BEPERKINGEN

- Specimens van patiënten die voor de diagnose of behandeling preparaten hebben gekregen van monoklonale antilichamen van muizen kunnen humane anti-muis-antilichamen (HAMA) bevatten. Dergelijke specimens kunnen ofwel vals-verhoogde of vals-verlaagde waarden vertonen wanneer ze met testkits worden getest waarbij gebruik wordt gemaakt van monoklonale antilichamen van muizen.
- Heterofiele antilichamen in humaan serum kunnen reageren met reagensimmunoglobulinen, wat een effect kan hebben op in vitro immunoassays.
Patiënten die regelmatig aan dieren of dierlijke serumproducten worden blootgesteld, kunnen vatbaar zijn voor een dergelijk effect, terwijl afwijkende waarden kunnen worden waargenomen wanneer heterofiele antilichamen aanwezig zijn. Beoordeel de resultaten zorgvuldig van patiënten van wie vermoed wordt dat ze deze antilichamen hebben.
Als de resultaten niet overeenstemmen met andere klinische waarnemingen moet bijkomende informatie worden verkregen voordat de diagnose wordt gesteld.

XV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Indien de resultaten, die verkregen werden voor controle 1 en/of controle 2, niet binnen het bereik vallen zoals vermeld op het flaconetiket, dan mogen de resultaten niet gebruikt worden tenzij een bevredigende uitleg gegeven wordt voor de discrepantie.
- Indien gewenst, kan elk laboratorium zijn eigen pools voor controlemonsters maken, die dan in aliquots bewaard moeten worden in de diepvriezer.

- Aanvaardingscriteria voor het verschil tussen de resultaten in duplo van monsters moeten steunen op gangbare laboratoriumpraktijken.

XVI. REFERENTIE-INTERVALS

Deze waarden worden slechts als leidraad gegeven; elk laboratorium moet zijn eigen normaal bereik van waarden uitmaken.

Identificatie	Aantal subjecten	Bereik (µIU/ml)
Euthyroidisme	216	0,2 – 3,2
Hyperthyroidisme	59	< 0,01 - 0,09
Hypothyroidisme	26	6,3- 158

XVII. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik.

Deze kit bevat ¹²⁵I (halfwaardetijd: 60 dagen), dat ioniserende X- (28 keV) en γ-stralen (35,5 keV) uitzendt.

Dit radioactieve product mag enkel overhandigd worden aan en gebruikt worden door bevoegd personeel; ontvangst, opslag, gebruik en overdracht van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetgeving van het land van de eindgebruiker. In geen geval mag het product toegediend worden aan mensen of dieren.

Alle handelingen met radioactief materiaal moeten plaatsvinden in een daartoe bestemde ruimte, waar uitsluitend bevoegd personeel toegelaten wordt. Een logboek met ontvangst en opslag van radioactieve materialen moet worden bijgehouden in het laboratorium. Laboratoriumapparatuur en glaswerk, dat eventueel gecontamineerd werd met radioactieve bestanddelen, moeten worden gesegregeerd om kruisbesmetting van verschillende radioisotopen te vermijden.

Als radioactief materiaal gemorst werd, dan moet dat onmiddellijk gereinigd worden in overeenstemming met de procedure voor stralingsveiligheid. Het radioactieve afval moet worden weggegooid in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften en richtlijnen van de autoriteiten waaronder het laboratorium valt. Naleving van de basisregels van stralingsveiligheid zorgt voor een juiste bescherming.

De componenten, afkomstig van menselijk bloed, in deze kit werden getest door in Europa goedgekeurde en/of door de Amerikaanse FDA goedgekeurde methoden op aanwezigheid van HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 en 2 en gaven een negatief resultaat. Geen enkele bekende methode kan echter volledige garantie bieden dat derivaten van menselijk bloed geen hepatitis, aids of andere infecties overdragen. Daarom moet men reagentia, serum- of plasmamonsters behandelen in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsprocedures.

Alle producten en derivaten van dierlijke oorsprong zijn afkomstig van gezonde dieren. Boviene componenten komen uit landen waar BSE niet gerapporteerd werd. Toch moeten componenten die bestanddelen van dierlijke oorsprong bevatten, behandeld worden als potentieel infectieus materiaal.

Vermijd dat de reagentia (natriumazide als conserveermiddel) in contact komen met de huid. Azide in deze kit kan reageren met lood en koper in de afvoerleidingen en op die manier zeer explosieve metaalaziden vormen. Tijdens de wasfase moeten de afvoerleidingen ruimschoots met water nagespoeld worden om ophoping van azide te vermijden.

Niet roken, drinken, eten of cosmetica aanbrengen in de werkruimte. Niet met de mond pipetteren. Draag beschermende kleding en gebruik wegwerphandschoenen.

XVIII. BIBLIOGRAFIE

1. BAYER M.F., KRISS J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic implication.
J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
2. CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
Lancet 1985,i: 1117-9
3. FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
4. MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.

High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.

Br. Med. J. 1985: 290:335-356.

5. MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
Clin. Chem. 1984;30:329
6. PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
In the thyroid., S. Wemer and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
7. RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
Lancet 1985; i: 277-8
8. ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
Ann. Intern. Med. 1986; 104:718-21
9. PETER S.A. et al.
Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).
Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6);346-9
10. JAIMELA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
Clin. Chem. 1994, Jan;40(1);101-105
11. KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
12. ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL-TELLINGEN (ml)	KALIBRATORS (ml)	MONSTER(S) CONTROLES (ml)
Kalibrators (0 -7) Monsters, Controles Tracer	- - 0,05	0,2 - 0,05	- 0,2 0,05
Incubatie	2 uur bij kamertemperatuur terwijl er voortdurend mee geschud wordt.		
Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding	- - - - -	opzuigen (of decanteren) 2,0 opzuigen (of decanteren) 2,0 opzuigen (of decanteren)	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

TSH-IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem thyreoideastimulierendes Hormon in Serum und Plasma.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. **Handelsbezeichnung :** DIAsource TSH-IRMA Kit
- B. **Katalognummer :** KIP1891 : 96 Tests
KIP1894 : 4 x 96 Tests
- C. **Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

Für Deutschland : Kostenfreie Rufnummer : 0800 1 00 85 74 - Kostenfreie Faxnummer : 0800 1 00 85 75

E-mail Ordering : ordering@diasource.be

III. KLINISCHER HINTERGRUND

Thyreotrope Zellen des Hypophysenvorderlappens synthetisieren und sezernieren humanes thyreoideastimulierendes Hormon (TSH), ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 28.000 Da, das zwei Untereinheiten umfasst: α -TSH ist einer α -Untereinheit von LH, FSH und hCG sehr ähnlich, β -TSH unterscheidet sich von anderen Hormon-Untereinheiten und definiert die immunologische Spezifität.

TSH reguliert die Synthese und Ausschüttung von Thyreoidhormonen: Thyroxin (T4) und Triiodthyronin (T3). Die Ausschüttung von TSH wird durch ein hypothalamisches Peptid, TRH (TSH-Releasing-Hormon) stimuliert; ein negatives Feedback auf die TSH-Sekretion wird durch T3 und T4 ausgeübt.

Primäre Hyperthyreose kann nun durch den ultrasensitiven TSH-Irma von DIAsource einfach von Euthyreose unterschieden werden, da hier hohe Sensitivität (0,025 μ IE/ml) und hohe Diskriminationskraft vorliegen.

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Der DIASource TSH-IRMA ist ein Radioimmuno-Assay in beschichteten Röhrchen. Mabs1, die Fänger-Antikörper, haften an der unteren inneren Oberfläche des Plastikröhrchens. In die Röhrchen zugegebene Kalibratoren oder Proben zeigen zuerst eine niedrige Affinität zu Mabs1. Zugabe von Mab2, das mit ¹²⁵I markierten Signalantikörpers, vervollständigt das System und triggert die immunologische Reaktion. Nach dem Waschen gibt die verbleibende, an den Röhrchen haftende Radioaktivität die Antigenkonzentration wieder. Die Verwendung einiger unterschiedlicher Mabs vermeidet die sonst bei zweiseitigem IRMA auftretende Hyperspezifität.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Test Kit	4x96 Test Kit	Farb Code	Rekonstitution			
Mit anti TSH-beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	2 x 48	8 x 48	gelb	gebrauchsfertig			
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodmarkierter Anti-TSH (monoklonale Antikörper) in TRIS-Maleatpuffer mit Rinderserum- albumin, Azid (<0.1%), EDTA und inertem roten Farbstoff	Ab	¹²⁵ I	1 Gefäß 5.5 ml 700 kBq	4 Gefäß 5.5 ml 4x700 kBq	rot	gebrauchsfertig	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Kalibrator 0 in Rinderserum und Thyml	CAL	0	1 Gefäß lyophil.	2 Gefäße lyophil.	gelb	2 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	0						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 to 7 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Pferdeserum und Thyml	CAL	N	7 Gefäße lyophil.	14 Gefäße lyophil.	gelb	2 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	4 Gefäß 10 ml	braun	70 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 or 2 Humanplasma und Thyml	CONTROL	N	2 Gefäße lyophil.	2 x 2 Gefäße lyophil.	silber	1 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N						

Bemerkung: 1 µIU der Standardzubereitung ist äquivalent zu 1 µIU der 2e IRP 80/558

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, wird aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

- Dest. Wasser
- Pipetten: 50 µl, 200µl, 1 ml und 2 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Wegwerf-Plastikspitzen wird empfohlen)
- 5 ml automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen
- Absaugsystem (optional)
- Vortex Mixer
- Magnetrührer
- Schüttler für Röhrchen (700 rpm)
- Jegl. Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. (minimal Yield 70%)

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Kalibratoren** : Rekonstituieren Sie den Standards mit 2,0 ml dest. Wasser.
- Kontrollen** : Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 1,0 ml dest. Wasser.
- Waschlösung**: Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (70x) mit 69 Anteilen dest. Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Verwerfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen oder Rekonstitution sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2°C bis 8°C stabil.
- Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren und Kontrollen bei 2°C bis 8°C 8 Tage stabil. Aliquots müssen bei längerer Aufbewahrung bei -20°C eingefroren werden während max. 3 Monaten.
- Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.
- Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Aufbewahrung im Originalgefäß und bei 2° bis 8° C bis zum Ablaufdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serum- oder Plasmaproben müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung in Aliquots bei -20°C erforderlich.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Serum- oder Plasmaproben liefern ähnliche Ergebnisse

$$Y (\text{Serum}) = 1.02x (\text{hep. Plasma}) - 0.06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y (\text{Serum}) = 1.00x (\text{EDTA Plasma}) + 0.05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. DURCHFÜHRUNG

A. Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.

Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Wegwerf-Pipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.

Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Standardkurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

B. Durchführung

- Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
- Vortexen Sie Kalibratoren, Kontrollen und Proben kurz und geben Sie jeweils 200 µl in ihre Röhrchen.
- Geben Sie 50 µl des Tracers in jedes Röhrchen.
- Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
- Inkubieren Sie 2 Stunden bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln (700 ± 100 rpm).
- Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
- Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
- Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab.
- Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
- Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
- Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- Tragen Sie auf semilogarithmischem oder linearem Millimeterpapier den c.p.m. (Ordinate) für jeden Standard gegen die entsprechende Konzentration TSH (Abszisse) und zeichnen Sie eine Standardkurve durch die Standardpunkte, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
- Berechnen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation aus der Standardkurve.
- Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer „4 Parameter“-Kurvenfunktion.

XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitstandardkurve verwendet werden.

TSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität		359316	100
Kalibrator	0,00 µIU/ml	123	0,03
	0,10 µIU/ml	572	0,16
	0,53 µIU/ml	1834	0,51
	1,54 µIU/ml	5284	1,47
	4,90 µIU/ml	16365	4,55
	14,00 µIU/ml	45387	12,63
	48,00 µIU/ml	122595	34,12
	90,00 µIU/ml	184397	51,32

XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

A. Nachweisgrenze

Die Grenzen von Leerwert (LoB), von Nachweis (LoD) und von Quantifizierung (LoQ) wurden in Übereinstimmung mit der CLSI Richtlinie EP17-A bestimmt

LoB wurde durch mehrfache Messung des Leerwertes und durch Kalkulation von 95 Prozent der Verteilung der Testwerte ermittelt. Der Leerwert wurde mit 0,05 µIU/ml bestimmt.

Die LoD wurde, wie in der Richtlinie beschrieben kalkuliert. Die LoD wurde mit 0,09 µIU/ml bestimmt.

LoQ wurde durch Testung von 5 Proben mit niedrigem Wert in verschiedenen Tests 14 mal ermittelt. LoQ wurde bei einem CV von 20% als 0,12 µIU/ml bestimmt.

B. Spezifität

Kreuzreaktive Hormone wurden zu einem minderwertigen und zu einem hochwertigen Kalibrator zugegeben. Das Scheinbare TSH Ergebnis wurde gemessen.

zugegeben Hormone	TSH CAL 1 µIU/ml	TSH CAL 2 µIU/ml
-	0,09	49,00
LH 300 mIU/ml	0,80	47,86
FSH 300 mIU/ml	0,19	44,58
HCG 300000 mIU/ml	6,36	48,48

C. Präzision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± SD (µIU/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (µIU/ml)	CV (%)
A	10	0,26 ± 0,02	6,0	A	20	1,34 ± 0,06	4,1
B	10	1,82 ± 0,03	1,4	B	20	13,69 ± 0,29	2,1
C	10	33,95 ± 0,20	0,6				

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST			
Probe	Zugeg. TSH (µIU/ml)	Wiedergef. TSH (µIU/ml)	Wiedergefunden (%)
Probe 1			
Serum	105	107	102
Hep. plasma	105	105	100
EDTA plasma	105	107	102
Probe 2			
Serum	0,62	0,65	105
Hep. plasma	0,62	0,63	102
EDTA plasma	0,62	0,65	105

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünn.	Theoret. Konz. (µIU/ml)	Gemess. Konz. (µIU/ml)
1	1/1	71,64	71,64
	1/2	35,82	35,66
	1/4	17,91	17,35
	1/8	8,95	8,42
	1/16	4,48	4,44
	1/32	2,24	2,17
	1/64	1,12	0,95
	1/128	0,56	0,51
	1/256	0,28	0,19
	1/512	0,14	0,08

Die Proben wurden mit Null-Kalibrator verdünnt.

E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 30 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITABSTAND				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (µIU/ml)	0,17	0,16	0,15	0,16
S 2 (µIU/ml)	34	34	34	36

F. Hookeffekt

Eine Probe mit THS bis zu 2500 µIU/ml liefert höhere Messwerte als der letzte Kalibratorwert.

XIV. ANWENDUNGSGRENZEN

- Proben von Patienten, die Zubereitungen von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Anti-Maus Antikörper (HAMA) enthalten. Solche Proben können entweder falsch erhöhte oder zu niedrige Werte ergeben, wenn sie mit Testsystemen getestet werden, die monoklonale Maus Antikörper enthalten.
- Heterophile Antikörper im humanen Serum können mit Immunglobulinen der Reagenzien reagieren und so mit in vitro Immunoassays interferieren.
- Patienten, die routinemäßigen Umgang mit Tieren oder Tierseren haben, können zu dieser Interferenz neigen und so können anormale Werte in Gegenwart von heterophilen Antikörpern beobachtet werden. Ergebnisse von Patienten, bei denen diese Antikörper vermutet werden, müssen sorgfältig evaluiert werden.
- Wenn die Ergebnisse nicht mit anderen klinischen Beobachtungen übereinstimmen, sollten weitere Informationen vor der Diagnosestellung ermittelt werden.

XV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls Extra-Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

XVI. REFERENZINTERVALE

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

Identifikation	Anz. der Personen	Bereich (µIE/ml)
Euthyreose	216	0,2 - 3,2
Hyperthyreose	59	< 0,01 - 0,09
Hypothyreose	26	6,3 - 158

XVII. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.
 Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35.5 keV) Strahlungen emittiert.
 Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.
 Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.
 Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in USA erprobten FDA Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.

Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrte den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

XVIII. LITERATUR

1. BAYER M.F., KRIS J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic Implication.
 J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
2. CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
 Lancet 1985,i: 1117-9
3. FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
 In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
4. MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.
High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.
 Br. Med. J. 1985: 290:335-356.
5. MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
 Clin. Chem. 1984;30:329
6. PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
 In the thyroid., S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
7. RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
 Lancet 1985; i: 277-8

8. ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
 Ann. Intern. Med. 1986; 104;718-21
9. PETER S.A. et al.
Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).
 Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6);346-9
10. JAIMELA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
 Clin. Chem. 1994, Jan;40(1);101-105
11. KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
 Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
12. ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
 Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT-AKTIVITÄT (ml)	KALIBRATOREN (ml)	PROBE(N) KONTROLLEN (ml)
Kalibratoren (0-7) Proben, Kontrollen Tracer	- - 0,05	0,2 - 0,05	- 0,2 0,05
Inkubation	2 Std. bei RT unter ständigem Schütteln		
Trennung Waschlösung Trennung Waschlösung Trennung	- - - - -	absaugen (oder dekant.) 2,0 absaugen (oder dekant.) 2,0 absaugen (oder dekant.)	
Gamma Counter	60 Sekunden messen		



Prima di utilizzare il kit leggere attentamente le istruzioni per l'uso

TSH-IRMA

I. USO DEL KIT

Kit radioimmunologico per la determinazione quantitativa in vitro dell'Ormone Stimolante la Tiroide umano (TSH) in siero e plasma.

II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE

- A. Nome commerciale:** DIAsource TSH-IRMA Kit
- B. Numero di catalogo:** KIP1891: 96 test
KIP1894: 4 x 96 test
- C. Prodotto da:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:
Tel: +32 (0)10 84.99.11 Fax: +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMAZIONI CLINICHE

Le cellule tireotrope dell'ipofisi anteriore sintetizzano e secernono l'ormone stimolante la tiroide umano (TSH), una glicoproteina di peso molecolare pari a 28,000 Da, composta da due subunità: l' α -TSH, molto simile a una subunità α di LH, FSH e hCG, e la β -TSH, che differisce dalle subunità degli altri ormoni e definisce la specificità immunologica.


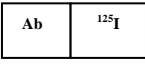
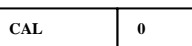


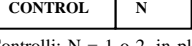
Il TSH regola la sintesi e il rilascio degli ormoni tiroidei: la tiroxina (T4) e la triiodotironina (T3) La secrezione di TSH è stimolata da un peptide ipotalamico, il TRH (ormone di rilascio della tireotropina - TSH); un meccanismo di feed-back negativo da parte di T3 e T4 regola la secrezione di TSH.

La differenziazione tra ipertiroidismo primario ed eutiroidismo è ora diventata facilmente attuabile grazie al test ultrasensibile DIAsource TSH-IRMA, contraddistinto da un'elevata sensibilità (0,025 μ UI/ml) e da un alto potere discriminante.

IV. PRINCIPIO DEL METODO

DIASource TSH-IRMA è un dosaggio immunoradiometrico con separazione in provette preadsorbite. L'anticorpo di cattura Mabs1 è preadsorbito sulla superficie interna della parte inferiore di provette di plastica. I calibratori e i campioni distribuiti nelle provette mostrano inizialmente una bassa affinità per il Mabs1. L'aggiunta di Mab2, un anticorpo di segnale marcato con ¹²⁵I, completa il sistema innescando la reazione immunologica. Una volta effettuato il lavaggio, la radioattività residua all'interno delle provette riflette la concentrazione dell'antigene. L'impiego di alcuni Mabs diversi tra loro evita il rischio di iperspecificità.

V. REATTIVI FORNITI

Reagents	96 tests Kit	4 x 96 tests Kit	Colour Code	Reconstitution
 Provette sensibilizzate con anticorpo anti TSH (anticorpi monoclonali)	2 x 48	8 x 48	Giallo	Pronte per l'uso
 Anti-TSH ¹²⁵ I (anticorpo monoclonale) in tampone TRIS maleato con albumina di siero bovino, azide (<0,1%), EDTA e un colorante rosso inerte	1 flacone 5,5 ml 700 kBq	4 flaconi 5,5 ml 4x700 kBq	Rosso	Pronte per l'uso
 Calibratore 0 in siero bovino con timolo	1 flacone iofiliz.	2 flaconi iofiliz.	Giallo	Aggiungere 2,0 ml di acqua distillata
 Calibratore 1-7 (le concentrazioni esatte degli calibratore sono riportate sulle etichette dei flaconi), in siero di cavallo, contenente timolo	7 flaconi iofiliz.	14 flaconi iofiliz.	Giallo	Aggiungere 2,0 ml di acqua distillata
 Tampone di lavaggio (TRIS-HCl)	1 flacone 10 ml	4 flaconi 10 ml	Bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
 Controlli: N = 1 o 2, in plasma umano, contenente timolo	2 flaconi iofiliz..	4 flaconi iofiliz.	Argento	Aggiungere 1 ml di acqua distillata

Note: 1 µUI del calibratore è equivalente a 1 µUI del 2° IRP 80/558

VI. REATTIVI NON FORNITI

Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.

1. Acqua distillata.
2. Pipette per dispensare 50 µl, 200 µl, 1 ml e 2 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
3. Agitatore tipo vortex.
4. Agitatore magnetico.
5. Agitatore rotante (700 rpm)
6. Pipetta a ripetizione automatica 5 ml per i lavaggi.(tipo Cornwall)
7. Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
8. Contatore gamma con finestra per ¹²⁵I (efficienza minima 70%)

VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- Calibratore:** Ricostituire i calibratore 0-7 con 2,0 ml acqua distillata.
- Controlli:** Ricostituire i controlli con 1,0 ml acqua distillata
- Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 69 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (70 x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

VIII. CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- I reattivi non utilizzati sono stabili a 2-8°C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- Dopo ricostituzione, i calibratori e i controlli rimangono stabili per 8 giorni a 2-8°C. Per periodi di conservazione più lunghi, suddividere in aliquote e conservare a -20°C per un massimo di 3 mesi. Evitare successivi congelamenti e scongelamenti.
- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Dopo apertura del flacone, il marcato è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato 2-8°C nel flacone originale ben tappato.
- Alterazioni dell'aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

IX. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Il siero e il plasma devono essere conservati a 2-8°C. Se il test non viene eseguito entro 24 ore, suddividere in aliquote e conservare a -20°C. Evitare successivi congelamenti e scongelamenti. Siero o plasma (EDTA o eparina) producono risultati simili.

$$Y(\text{siero}) = 1,02x(\text{plasma epar.}) - 0,06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y(\text{siero}) = 1,00x(\text{plasma EDTA}) + 0,05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. METODO DEL DOSAGGIO

A. Avvertenze generali

Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare reattivi di lotti diversi. Prima dell'uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente. Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione. Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione. L'uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio. Rispettare i tempi di incubazione. Allestire una curva di taratura per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di taratura di sedute analitiche precedenti.

B. Metodo del dosaggio

1. Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplicato ogni calibratore, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.
2. Agitare brevemente su vortex calibratore, campioni e controlli. Dispensare 200 µl di calibratore, campioni e controlli nelle rispettive provette.
3. Dispensare 50 µl di marcato anti-TSH¹²⁵I in ciascuna provetta, comprese quelle non preadsorbite per l'attività totale.
4. Agitare manualmente con delicatezza il portaprovette in modo da eliminare eventuali bolle d'aria.
5. Incubare 120 minuti a temperatura ambiente in agitazione (700 ± 100 rpm).
6. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale, facendo attenzione che il puntale dell'aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
7. Lavare tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
8. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale.
9. Lavare nuovamente tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio e aspirare (o decantare).
10. Dopo il secondo lavaggio lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residuo.
11. Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

1. Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
2. Costruire la curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica o lineare ponendo in ordinata le medie dei colpi per minuto (cpm) dei replicati degli standard e in ascissa le rispettive concentrazioni di TSH. Scartare i duplicati palesemente discordanti.
3. Determinare le concentrazioni e controlli per interpolazione sulla curva di

taratura.

4. E' possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.

XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

Il sottoripresentato sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di TSH in campioni e controlli al posto della curva standard, che va eseguita per ogni dosaggio.

TSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Attività totale		359316	100
Calibratore	0,00 µIU/ml	123	0,03
	0,10 µIU/ml	572	0,16
	0,53 µIU/ml	1834	0,51
	1,54 µIU/ml	5284	1,47
	4,90 µIU/ml	16365	4,55
	14,00 µIU/ml	45387	12,63
	48,00 µIU/ml	122595	34,12
	90,00 µIU/ml	184397	51,32

XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

A. Sensibilità

Il limite del bianco (LoB), il limite di rilevazione (LoD) e il limite di quantizzazione (LoQ) sono stati stabiliti secondo le linee guida CLSI EP17-A.

Il LoB è stato calcolato misurando più volte il bianco e calcolando il 95° percentile della distribuzione dei valori dei test. Il LoB è risultato essere pari a 0,05 µIU/ml.

Il LoD è stato calcolato come descritto nelle linee guida. Il LoD è risultato essere pari a 0,09 µIU/ml.

Il LoQ è stato calcolato analizzando per 14 volte in test diversi 5 campioni dai quali erano stati ottenuti valori bassi. Il LoQ è risultato essere pari a 0,12 µIU/ml con un CV del 20%.

B. Specificità

Sono stati aggiunti ormoni cross-reagenti a due calibratori TSH, uno ad elevata concentrazione e uno a bassa concentrazione, ed è stata successivamente valutata la risposta apparente del TSH.

Ormone aggiunto	TSH CAL 1 µIU/ml	TSH CAL 2 µIU/ml
-	0,09	49,00
LH 300 mIU/ml	0,80	47,86
FSH 300 mIU/ml	0,19	44,58
hCG 300000 mIU/ml	6,36	48,48

C. Precisione

INTRA SAGGIO

INTER SAGGIO

Siero	Replicato	<X> ± SD (µIU/ml)	CV (%)	Siero	Replicato	<X> ± SD (µIU/ml)	CV (%)
A	10	0,26 ± 0,02	6,0	A	20	1,34 ± 0,06	4,1
B	10	1,82 ± 0,03	1,4	B	20	13,69 ± 0,29	2,1
C	10	33,95 ± 0,20	0,6				

SD : Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

D. Accuratezza

TEST DI DILUIZIONE

Campione	Diluizione	Concentrazione teorica (µIU/ml)	Concentrazione misurata (µIU/ml)
1	1/1	71,64	71,64
	1/2	35,82	35,66
	1/4	17,91	17,35
	1/8	8,95	8,42
	1/16	4,48	4,44
	1/32	2,24	2,17
	1/64	1,12	0,95
	1/128	0,56	0,51
	1/256	0,28	0,19
	1/512	0,14	0,08

I campioni sono stati diluiti con calibratore zero.

TEST DI RECUPERO

Campione	TSH aggiunta (µIU/ml)	TSH recuperata (µIU/ml)	Recupero (%)
Campione 1	Siero	105	102
	plasma epar.	105	100
	plasma EDTA	105	102
Campione 2	Siero	0,62	0,65
	plasma epar.	0,62	0,63
	EDTA plasma	0,62	0,65

E. Tempo trascorso tra l'aggiunta dell'ultimo calibratore e il campione

Come mostrato nella seguente tabella, il dosaggio si mantiene accurato anche quando un campione viene aggiunto nelle provette sensibilizzate 30 minuti dopo l'aggiunta del calibratore.

TEMPO TRASCORSO				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (µIU/ml)	0,17	0,16	0,15	0,16
S 2 (µIU/ml)	34	34	34	36

F. Effetto hook

Un campione arricchito con 2500 µIU/ml produce valori superiori a quelli dell'ultimo punto di calibrazione

XIV. LIMITAZIONI

- Campioni di pazienti che abbiano assunto preparazioni a base di anticorpi monoclonali murini a scopo diagnostico o terapeutico potrebbero contenere anticorpi umani antimurini (HAMA). Tali campioni, quando testati con metodiche basate sull'impiego di anticorpi monoclonali murini, potrebbero produrre valori falsamente elevati o ridotti.
- Nell'esecuzione di tecniche di immunodosaggio in vitro, la presenza in campioni di siero umano di anticorpi eterofili che possono reagire con immunoglobuline reattive può dar luogo ad interferenze. Pazienti sistematicamente esposti al contatto con animali o con prodotti derivanti da siero animale possono essere oggetto di tale tipo di interferenza, con conseguente riscontro di risultati anomali in caso di presenza di anticorpi eterofili. Si raccomanda pertanto di valutare attentamente i risultati relativi ai pazienti con sospetta presenza di tale tipo di anticorpo. Qualora i risultati non fossero in linea con le altre osservazioni cliniche si renderà necessaria la raccolta di ulteriori informazioni prima della formulazione di una diagnosi.

XV. CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all'interno dei limiti riportati sull'etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente.
- Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote. Non congelare e scongelare un'aliquota più di due volte.
- I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.

XVI. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Questi valori vengono dati solo come guida; ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli normali di valori.

Identificazione	Numero di soggetti	Range (µIU/ml)
Eutiroidismo	216	0,2 - 3,2
Iperitiroidismo	59	< 0,01 - 0,09
Ipotiroidismo	26	6,3 - 158

XVII. PRECAUZIONI PER L'USO

Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro.

Il kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35,5 keV) ionizzanti.

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori. I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.

Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni.

Evitare ogni contatto dell'epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

XVIII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

11. BAYER M.F., KRISS J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic Implication.
J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
2. CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
Lancet 1985,i: 1117-9
3. FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
4. MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.
High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.
Br. Med. J. 1985: 290:335-356.
5. MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
Clin. Chem. 1984;30:329
6. PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
In the thyroid., S. Wemer and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
7. RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
Lancet 1985; i: 277-8
8. ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
Ann. Intern. Med. 1986; 104:718-21
9. PETER S.A. et al.
Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).
Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6);346-9
10. JAIMELA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
Clin. Chem. 1994, Jan;40(1);101-105

11. KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
12. ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	Attività totale ml	Calibratore ml	CAMPIONI Controlli ml
Calibratore (0 - 7) Campioni, controlli Marcato	- - 0,05	0,2 - 0,05	- 0,2 0,05
Incubazione	120 minuti a temperatura ambiente su agitatore		
Separazione Soluzione di lavoro tampone di lavaggio		Aspirare (o decantare) 2 ml	
Separazione Soluzione di lavoro tampone di lavaggio		Aspirare (o decantare) 2 ml	
Separazione		Aspirare (o decantare)	
Conteggio	Contare le provette per 1 minuto		

Leer el protocolo completo antes de usar.

TSH-IRMA

I. INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de la hormona tiroestimulante (TSH) humana en suero y plasma.

II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. Nombre:** DIAsource TSH-IRMA Kit
- B. Número de Catálogo:** KIP1891 : 96 tests
KIP1894 : 4x96 tests
- C. Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Para cuestiones técnicas y información sobre pedidos contactar:

Tel : +32 (0)10 84.99.11

Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMACIÓN CLÍNICA













Células tiro tropas de la pituitaria anterior sintetizan y segregan la hormona tiroestimulante humana (TSH), una glicoproteína con un peso molecular de 28,000 Da que contiene dos subunidades: la α -TSH se parece mucho a una subunidad de LH, FSH y hCG, la β -TSH es diferente de otras subunidades hormonales y determina la especificidad inmunológica.

La TSH regula la síntesis y la secreción de las hormonas tiroideas: la tiroxina (T4) y la triiodotironina (T3). La secreción de TSH es estimulada por un péptido hipotalámico, TRH (hormona liberadora de TSH); la T3 y la T4 ejercen un feedback negativo en la secreción de TSH. Ahora el hipertiroidismo primario es diferenciado fácilmente del eutiroidismo por la TSH-Irma ultrasensible de DIAsource, gracias a la gran sensibilidad (0.025 μ UI/ml) y la gran capacidad de discriminación.

IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

TSH-IRMA de DIASource es un radioinmunoensayo basado en la separación en tubo recubierto de anticuerpos. Mabs1, los anticuerpos de captura, se adhieren en la parte interior de las paredes del tubo de poliestireno. Al principio calibradores o muestras añadidos a los tubos presentarán poca afinidad con Mabs1. La adición de Mab2, el anticuerpo señal marcado con ¹²⁵I, completará el sistema y activará la reacción inmunológica. Después del lavado, la radiactividad restante adherida al tubo, refleja la concentración del antígeno. El uso de varios Mabs distintos evita hiperspecificidad, propia de los IRMA de dos-puntos.

V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	96 tests Kit	4x96 tests Kit	Código de Color	Reconstitución
 Tubos recubiertos con anti TSH (anticuerpos monoclonales)	2 x 48	8 x 48	amarillo	Listo para uso
  TRAZADOR: anti-TSH(anticuerpos monoclonales) marcado con I125 en tampón TRIS maleato con albúmina bovina, azida (<0.1%), EDTA y un colorante rojo inerte	1 vial 5.5 ml 700 kBq	4 viales 5.5 ml 4x700 kBq	rojo	Listo para uso
  Calibrador 0 en suero bovino con thymol	1 vial liofilizados	2 viales liofilizados	amarillo	Añadir 2 ml de agua destilada
  Calibradores N =1 a 7 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero de caballo con thymol	7 viales liofilizados	14 viales liofilizados	amarillo	Añadir 2 ml de agua destilada
   Solución de lavado (Tris-HCl)	1 vial 10 ml	4 viales 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
  Controles - N = 1 o 2 en plasma humano y thymol	2 viales liofilizados	2 x 2 viales liofilizados	plateado	Añadir 1 ml de agua destilada

Nota: 1 µUI de la preparación del calibrador es equivalente a 1 µUI del 2nd IRP 80/558

VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no esta incluido en el kit

1. Agua destilada
2. Pipetas de 50µl, 200µl, 1 ml y 2 ml(Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
3. Vortex
4. Agitador magnético
5. Agitador de tubos (700 rpm)
6. Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
7. Sistema de aspiración (opcional)
8. Contador de radiaciones gamma para medir I¹²⁵ (mínima eficiencia 70%)

VII. PREPARACIÓN REACTIVOS

- A. Calibradores:** Reconstituir los calibradores con 2,0 ml de agua destilada.
- B. Controles:** Reconstituir los controles con 1,0 ml de agua destilada.
- C. Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir ó reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8°C.
- Después de su reconstitución los calibradores y controles son estables durante 8 días a 2-8°C. Para periodos más largos, alicuotar y guardar a -20°C como mucho 3 meses.
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Después del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2-8°C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad ó deterioro.

IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero ó plasma deben ser guardadas a 2-8°C.
- Si el ensayo no se realiza en 24 hrs., almacenar las muestras a -20° en alícuotas.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- Suero o plasma presentan resultados similares

$$Y(\text{Suero}) = 1.02x(\text{hep. plasma}) - 0.06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y(\text{Suero}) = 1.00x(\text{EDTA plasma}) + 0.05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. PROTOCOLO

A. Notas de manejo

No utilizar el kit ó componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente numero de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso. Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra. El uso de pipetas de precisión ó equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación. Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

B. Protocolo

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
2. Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 200 µl de cada uno en sus respectivos tubos.
3. Dispensar 50 µL del trazador en cada tubo, incluyendo los tubos destinados a las Cuentas Totales.
4. Agitar suavemente la gradilla de tubos para soltar cualquier burbuja adherida a las paredes de los tubos.
5. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente en agitación constante (700 ± 100 rpm).
6. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
7. Lavar los tubos con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado.
8. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales)
9. Lavar de nuevo con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar).
10. Después del último lavado, dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el líquido restante.
11. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

XI. CALCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Representar en un gráfico semilogarítmico o lineal el c.p.m. (ordenada) para cada calibrador frente a las concentraciones de TSH (abscisa) y dibujar una curva de calibración por los puntos obtenidos, rechazando los duplicados malos.
3. Leer la concentración para cada control y muestra por interpolación en la curva de calibración.
4. Métodos computarizados de proceso de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de calculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica " 4 parámetros".

XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

TSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Cuentas Totales		359316	100
Calibrador	0,00 μ UI/ml	123	0,03
	0,10 μ UI/ml	572	0,16
	0,53 μ UI/ml	1834	0,51
	1,54 μ UI/ml	5284	1,47
	4,90 μ UI/ml	16365	4,55
	14,00 μ UI/ml	45387	12,63
	48,00 μ UI/ml	122595	34,12
	90,00 μ UI/ml	184397	51,32

XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

A. Limite de detección

El Límite del Blanco (LoB), el Límite de Detección (LoD) y el Límite de Cuantificación (LoQ) se determinaron según la directriz EP17-A del CLSI. El LoB se calculó midiendo el blanco varias veces y calculando el percentil 95 de la distribución de los valores de la prueba. El cálculo determino que el LoB fue 0.05 μ UI/ml.

El LoD se calculó como se describe en la directriz. El cálculo determinó que el LoD fue 0.09 μ UI/ml.

El LoQ se calculó analizando cinco muestras de baja concentración 14 veces en pruebas diferentes. El cálculo determino que el LoQ fue 0.12 μ UI/ml con un CV de 20%.

B. Especificidad

Hormonas con estructura similar se añadieron a un calibrador con un valor TSH elevado y a un calibrador con un valor bajo. La respuesta aparente fue medida.

Hormona añadida	TSH CAL 1 μ UI/ml	TSH CAL 2 μ UI/ml
-	0,09	49,00
LH 300 mUI/ml	0,80	47,86
FSH 300 mUI/ml	0,19	44,58
hCG 300000 mUI/ml	6,36	48,48

C. Precisión

PRECISIÓN INTRA-ENSAYO

PRECISIÓN INTER-ENSAYO

Suero	N	<X> \pm SD (μ UI/ml)	CV (%)	Suero	N	<X> \pm SD (μ UI/ml)	CV (%)
A	10	0,26 \pm 0,02	6,0	A	20	1,34 \pm 0,06	4,1
B	10	1,82 \pm 0,03	1,4	B	20	13,69 \pm 0,29	2,1
C	10	33,95 \pm 0,20	0,6				

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

D. Exactitud

TEST DILUCIÓN

Muestra	Dilución	Concent. Teórica (μ UI/ml)	Concent. Medida (μ UI/ml)
1	1/1	71,64	71,64
	1/2	35,82	35,66
	1/4	17,91	17,35
	1/8	8,95	8,42
	1/16	4,48	4,44
	1/32	2,24	2,17
	1/64	1,12	0,95
	1/128	0,56	0,51
	1/256	0,28	0,19
	1/512	0,14	0,08

Las muestras fueron diluidas con el calibrador cero

TEST DE RECUPERACIÓN

Muestra	TSH añadido (μ UI/ml)	TSH Recuperado (μ UI/ml)	Recuperado (%)
Muestra 1	Suero	105	102
	Hep. plasma	105	100
	EDTA plasma	105	102
Muestra 2	Suero	0,62	0,65
	Hep. plasma	0,62	0,63
	EDTA plasma	0,62	0,65

E. Tiempo de espera entre la dispensación del último calibrador y la de la muestra

Como se muestra a continuación la precisión del ensayo se mantiene incluso en el caso de dispensar la muestra 30 minutos después de haberse adicionado el calibrador a los tubos cubiertos.

	TIEMPO DE ESPERA			
	0'	10'	20'	30'
S 1 (μ UI/ml)	0,17	0,16	0,15	0,16
S 2 (μ UI/ml)	34	34	34	36

F. Efecto "hook"

Una muestra conteniendo TSH hasta 2500 μ UI/ml presenta cuentas más elevadas que el último punto de calibración.

XIV. LIMITACIONES

- Es posible que las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia, puedan contener anticuerpos humanos anti ratón (HAMA). Los resultados de estas muestras analizadas con kits que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón, pueden dar valores falsamente aumentados o disminuidos.
- Los anticuerpos heterófilos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas que forman parte del reactivo, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro. Pacientes que en forma rutinaria están en contacto con animales o productos derivados de suero animal, pueden tender a presentar esta interferencia y se pueden observar valores anómalos en caso de haber presencia de anticuerpos heterófilos. Evalúe cuidadosamente los resultados de aquellos pacientes sospechosos de tener estos anticuerpos. Si los resultados no concuerdan con otras observaciones clínicas, será necesario obtener información adicional antes de hacer un diagnóstico.

XV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/ó Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, los cuales se guardan en alícuotas congeladas.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los duplicados de los resultados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

XVI. INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de orientación; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.

Identificación	Número de sujetos	Alcance (μ UI/ml)
Eutiroidismo	216	0,2 - 3,2
Hipertiroidismo	59	< 0,01 - 0,09
Hipotiroidismo	26	6,3 - 158

XVII. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I^{125} (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA ó otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo sustancias animales deberán ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

1. BAYER M.F., KRIS J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic Implication.
J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
2. CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
Lancet 1985,i: 1117-9
3. FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
4. MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.
High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.
Br. Med. J. 1985: 290:335-356.
5. MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
Clin. Chem. 1984;30:329
6. PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
In the thyroid., S. Wemer and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
7. RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSSSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
Lancet 1985; i: 277-8
8. ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
Ann. Intern. Med. 1986; 104:718-21

9. PETER S.A. et al.
Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).
Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6);346-9
10. JAIMEA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
Clin. Chem. 1994, Jan;40(1);101-105
11. KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
12. ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CUENTAS TOTALES (μ l)	CALIBRADO RES (μ l)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (μ l)
Calibradores (0 al 7)	-	200	-
Muestras, controles	-	-	200
Trazador	50	50	50
Incubación	2 horas a T.A. en agitación constante		
Separación	-	aspirar	
Solución de Lavado	-	2,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Solución de Lavado	-	2,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Contaje	Contar los tubos durante 60 segundos		

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

TSH-IRMA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Κιτ ανοσοραδιομετρικού προσδιορισμού για την in vitro ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH) στον ορό και το πλάσμα.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. **Εμπορική ονομασία:** Κιτ TSH-IRMA της DIAsource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KIP1891: 96 προσδιορισμοί
KIP1894: 4 x 96 προσδιορισμοί
- Γ. **Κατασκευάζεται από την:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)10 84.99.11 Φαξ: +32 (0)10 84.99.91

II. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

Τα θυρεοειδοτρόπα κύτταρα της πρόσθιας υπόφυσης συνθέτουν και εκκρίνουν την ανθρώπινη θυρεοειδοτρόπο ορμόνη (TSH), μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 28.000 Da, η οποία περιλαμβάνει δύο υπομονάδες: η α-TSH είναι πολύ παρόμοια με μια α υπομονάδα των LH, FSH και hCG, η β-TSH διαφέρει από άλλες υπομονάδες της ορμόνης και ορίζει την ανοσολογική ειδικότητα.


Η TSH ρυθμίζει τη σύνθεση και την απελευθέρωση των θυρεοειδικών ορμονών: θυροξίνη (T4) και τριϊωδοθυρονίνη (T3). Η έκκριση της TSH διεγείρεται από ένα πεπτίδιο του υποθαλάμου, την TRH (ορμόνη έκλυσης της TSH). Από τις ορμόνες T3 και T4 ασκείται μια αρνητική ανάδραση στην έκκριση της TSH.

Ο πρωτοπαθής υπερθυρεοειδισμός διαφοροποιείται τώρα πλέον από τον ευθυρεοειδισμό μέσω του υπερεναίσιθτου προσδιορισμού TSH-Irma της DIAsource, εξαιτίας της υψηλής ευαισθησίας (0,025 mIU/ml) και της υψηλής διακριτικής ισχύος.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η εξέταση TSH-IRMA της DIASource είναι ένας ανοσοραδιομετρικός προσδιορισμός που βασίζεται σε διαχωρισμό επιστρωμένων σωληναρίων. Τα Mabs1, τα αντισώματα σύλληψης, προσκολλώνται στην κάτω και εσωτερική επιφάνεια του πλαστικού σωληναρίου. Οι βαθμονομητές ή τα δείγματα που προστίθενται στα σωληνάρια εμφανίζουν κατ' αρχήν χαμηλή συγγένεια προς τα Mabs1. Προσθήκη Mab2, του αντισώματος σηματοδότησης που είναι σηματοδομημένο με ¹²⁵I, θα ολοκληρώσει το σύστημα και θα πυροδοτήσει την ανοσολογική αντίδραση. Μετά την πλύση, η υπολειπόμενη ραδιενέργεια, που είναι δεσμευμένη στο σωληνάριο, αντανακλά τη συγκέντρωσή του αντιγόνου. Η χρήση αρκετών διακριτών Mabs εμποδίζει την υπερειδικότητα.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 προσδιορισμών	Κιτ 4 x 96 προσδιορισμών	Χρωματικός κωδικός	Ανασύσταση			
 Σωληνάρια επιστρωμένα με αντι TSH (μονοκλωνικά αντισώματα)	2 x 48	8 x 48	κίτρινο	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1" data-bbox="95 772 247 817"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> Αντι-TSH (μονοκλωνικά αντισώματα) σηματοδοτημένα με ¹²⁵ I σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS μηλικών με βόεια ορολευκωματίνη, αζίδιο (<0,1%), EDTA και αδρανής κόκκινη χρωστική	Ab	¹²⁵ I	1 φιαλίδιο 5,5 ml 700 kBq	4 φιαλίδια 5,5 ml 4x700 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1" data-bbox="63 1019 271 1064"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Μηδενικός βαθμονομητής σε βόειο ορό, θυμόλη	CAL	0	1 φιαλίδιο λυοφιλ.	2 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 2,0 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="63 1131 271 1176"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Βαθμονομητές 1-7 σε ορό ίππου με θυμόλη (δείτε ακριβή τιμή πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων)	CAL	N	2 φιαλίδια λυοφιλ.	14 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 2,0 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="71 1310 295 1355"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	4 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="71 1422 271 1467"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> πλάσμα ελέγχου 1 και 2 σε ανθρώπινο ορό και θυμόλη	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλ.	4 φιαλίδια λυοφιλ.	ασημί	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού	
CONTROL	N						

Σημείωση: 1 μIU του βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 1 μIU του 2ου IRP 80/558.

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

1. Απεσταγμένο νερό
2. Πιπέτες για διανομή: 50 μl, 200 μl, 1 ml και 2 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχος)
3. Αναμεικτής στροβιλισμού (τύπου vortex)
4. Μαγνητικός αναδευτήρας
5. Συσκευή ανάδευσης σωληναρίων (700 rpm)
6. Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
7. Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό)
8. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε μετρητής γ ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης της ¹²⁵I (ελάχιστη απόδοση 70%).

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε τους βαθμονομητές 0-7 με 2,0 ml απεσταγμένου νερού.

- B. Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 1 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου παραμένουν σταθεροί για 8 ημέρες σε θερμοκρασία 2 έως 8° C. Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, πρέπει να σχηματίζονται κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης και να διατηρούνται στους -20° C το πολύ για 3 μήνες. Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- Μετά την πρώτη χρήση του, ο ιχνηθέτης παραμένει σταθερός έως την ημερομηνία λήξης, εφόσον διατηρηθεί στο αρχικό, ερμητικά κλειστό φιαλίδιο σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Τα δείγματα ορού και πλάσματος πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης στους -20° C.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Ο ορός ή το πλάσμα (EDTA ή ηπαρίνη) παρέχουν παρόμοια

$$Y(\text{ορός}) = 1,02x(\text{ηπαρ. πλάσμα}) - 0,06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y(\text{ορός}) = 1,00x(\text{πλάσμα με EDTA}) + 0,05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

A. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό

- Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμείξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακριβείας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

B. Διαδικασία

1. Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
2. Αναμείξτε για λίγο (με αναμεικτή στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, ορούς ελέγχου και δείγματα και διανείμετε 200 μl από έκαστο στα αντίστοιχα σωληνάρια.
3. Διανείμετε 50 μl ιχνηθέτη αντι-TSH-¹²⁵I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβανοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total").
4. Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
5. Επωάστε επί 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου με συσκευή ανάδευσης (700 ± 100 rpm).
6. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
7. Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
8. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με

- εξάιρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"].
9. Πλύνετε τα σωληνάρια και πάλι με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξάιρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε).
 10. Μετά την τελευταία πλύση, αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
 11. Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

1. Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
2. Σε ημιλογαριθμικό ή γραμμικό χαρτί γραφημάτων, παραστήστε γραφικά τις c.p.m. (κρούσεις ανά λεπτό) (τεταγμένη) για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης της TSH (τεταγμένη) και σχεδιάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης μέσω των σημείων του βαθμονομητή, απορρίπτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
3. Διαβάστε τη συγκέντρωση για κάθε ορό ελέγχου και δείγμα με αναγωγή στην καμπύλη βαθμονόμησης.
4. Αναγωγή δεδομένων με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή θα απλοποιήσει αυτούς τους υπολογισμούς. Εάν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως παράδειγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

TSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵ I ("total")		359316	100
Βαθμονομητής	0,00 μIU/ml	123	0,03
	0,10 μIU/ml	572	0,16
	0,53 μIU/ml	1834	0,51
	1,54 μIU/ml	5284	1,47
	4,90 μIU/ml	16365	4,55
	14,00 μIU/ml	45387	12,63
	48,00 μIU/ml	122595	34,12
	90,00 μIU/ml	184397	51,32

XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. Όριο ανίχνευσης

Το Όριο Τυφλού (LoB), το Όριο Ανίχνευσης (LoD), και το Όριο Ποσοτικοποίησης (LoQ), καθορίστηκαν σύμφωνα με την οδηγία EP17-A του Ινστιτούτου CLSI.

Το LoB υπολογίστηκε με πολλαπλή μέτρηση του τυφλού δείγματος και υπολογισμούς του 95^{ου} εκατοστημόριου της κατανομής των τιμών της εξέτασης. Το LoB υπολογίστηκε πως είναι 0.05 μIU/ml.

Το LoD υπολογίστηκε με τον τρόπο που περιγράφεται στην οδηγία. Το LoD υπολογίστηκε πως είναι 0.09 μIU/ml.

Το LoQ υπολογίστηκε μέσω εξέτασης 5 δειγμάτων χαμηλής τιμής, 14 φορές σε διαφορετικές εξετάσεις. Το LoQ υπολογίστηκε πως είναι 0.12 μIU/ml με συντελεστή διακύμανσης (CV) 20%.

B. Ειδικότητα

Ορμόνες διασταυρούμενης αντιδραστικότητας προστέθηκαν σε ένα βαθμονομητή χαμηλής και υψηλής τιμής TSH. Μετρήθηκε η φαινομενική απόκριση της TSH.

Προστεθείσα ορμόνη	TSH CAL 1 μIU/ml	TSH CAL 2 μIU/ml
-	0,09	49,00
LH 300 mIU/ml	0,80	47,86
FSH 300 mIU/ml	0,19	44,58
hCG 300000 mIU/ml	6,36	48,48

Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	Επανάληψη	<X> ± T.A. (μIU/ml)	Σ.Δ. (%)	Ορός	Επανάληψη	<X> ± T.A. (μIU/ml)	Σ.Δ. (%)
A	10	0,26 ± 0,02	6,0	A	20	1,34 ± 0,06	4,1
B	10	1,82 ± 0,03	1,4	B	20	13,69 ± 0,29	2,1
Γ	10	33,95 ± 0,20	0,6				

T.A.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Δείγμα	Προστιθέμενη TSH (μIU/ml)	Ανακτηθείσα TSH (μIU/ml)	Ανάκτηση (%)
Δείγμα 1 Ορός Ηπαρ. πλάσμα Πλάσμα με EDTA	105	107	102
	105	105	100
	105	107	102
Δείγμα 2 Ορός Ηπαρ. πλάσμα Πλάσμα με EDTA	0,62	0,65	105
	0,62	0,63	102
	0,62	0,65	105

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (μIU/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (μIU/ml)
1	1/1	71,64	71,64
	1/2	35,82	35,66
	1/4	17,91	17,35
	1/8	8,95	8,42
	1/16	4,48	4,44
	1/32	2,24	2,17
	1/64	1,12	0,95
	1/128	0,56	0,51
	1/256	0,28	0,19
	1/512	0,14	0,08

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

E. Μεσοδιάστημα μεταξύ της διανομής τελευταίου βαθμονομητή και δείγματος

Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν αξιόπιστα ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 30 λεπτά μετά την προσθήκη του βαθμονομητή στα επιστρωμένα σωληνάρια.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (μIU/ml)	0,17	0,16	0,15	0,16
S 2 (μIU/ml)	34	34	34	36

ΣΤ. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)

Δείγμα που εμβολιάστηκε με 2500 μIU/ml δίνει αποτέλεσμα υψηλότερο από το σημείο της τελευταίας βαθμονόμησης.

XIV. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Δείγματα από ασθενείς που έχουν λάβει παρασκευάσματα μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικού για σκοπούς διάγνωσης ή θεραπείας, ενδεχομένως να περιέχουν ανθρώπινα αντισώματα αντι-ποντικού (HAMA). Σε αυτά τα δείγματα μπορούν να παρατηρηθούν ψευδώς αυξημένες ή ψευδώς μειωμένες τιμές, όταν ελέγχονται με kit προσδιορισμού που χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού.
- Τα ετεροφιλικά αντισώματα στον ανθρώπινο ορό μπορούν να αντιδράσουν με ανοσοσφαιρίνες των αντιδραστηρίων, προκαλώντας παρεμβολή σε in vitro ανοσοπροσδιορισμούς.

Ασθενείς που εκτίθενται τακτικά σε ζώα ή προϊόντα ζωικού ορού ενδεχομένως να είναι επιρρεπείς σε αυτήν την παρεμβολή. Παθολογικές τιμές μπορούν να παρατηρηθούν σε παρουσία ετεροφιλικών αντισωμάτων. Αξιολογείτε με προσοχή τα αποτελέσματα ασθενών, στους οποίους υπάρχει υποψία αυτών των αντισωμάτων. Εάν τα αποτελέσματα δεν είναι σύμφωνα με άλλες κλινικές παρατηρήσεις, θα χρειαστεί η λήψη περαιτέρω πληροφοριών πριν από τη θέση της διάγνωσης.

XV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

XVI. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές αυτές παρέχονται μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Τυποποίηση	Αριθμός ατόμων	Πεδίο τιμών (μIU/ml)
Ευθυρεοειδισμός	216	0,2 – 3,2
Υπερθυρεοειδισμός	59	< 0,01 - 0,09
Υποθυρεοειδισμός	26	6,3- 158

XVII. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφάλεια

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (28 keV) και γ (35.5 keV).

Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσοτόπων.

Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HbsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσσώρευσης αζιδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

XVIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. BAYER M.F., KRISS J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic Implication.
J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
2. CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
Lancet 1985,i: 1117-9
3. FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
4. MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.
High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.
Br. Med. J. 1985: 290:335-356.
5. MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
Clin. Chem. 1984;30:329
6. PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
In the thyroid., S. Wemer and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
7. RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
Lancet 1985; i: 277-8
8. ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
Ann. Intern. Med. 1986; 104;718-21
9. PETER S.A. et al.
Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).
Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6);346-9
10. JAIMELA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
Clin. Chem. 1994, Jan;40(1);101-105
11. KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
12. ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΚΡΟΥΣΕΙ Σ "TOTAL" ml	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΕ Σ ml	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ ml
Βαθμονομητές (0-7) Δείγματα, οροί ελέγχου Ιχνηθέτης	- - 0,05	0,2 - 0,05	- 0,2 0,05
Επώαση	2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης εργασίας	- -	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2.0	
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης εργασίας	- -	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2.0	
Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

TSH-IRMA

I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie immunoradiometryczne do ilościowego pomiaru ludzkiego hormonu tyreotropowego (Thyroid Stimulating Hormone (TSH)) w surowicy i osoczu metodą *in vitro*.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. **Nazwa firmowa:** DIAsource TSH-IRMA Kit
- B. **Numer katalogowy:** KIP1891: 96 oznaczeń
KIP1894: 4 x 96 oznaczeń
- C. **Wyprodukowano przez:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)10 84.99.11

Fax: +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMACJE KLINICZNE

Komórki tyreotropowe przedniego płata przysadki syntetyzują i wydzielają ludzką tyreotropinę (TSH), glikoproteinę o masie cząsteczkowej 28 kDa, składającą się z dwóch podjednostek : α -TSH, która jest bardzo podobna do podjednostek α LF, FSH i hCG oraz β -TSH, która różni się od podjednostek innych hormonów i określa swoistość immunologiczną.


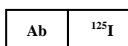
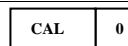

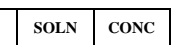
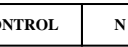
TSH reguluje syntezę i uwalnianie hormonów tarczycy : tyroksyny (T4) i trójjodotyroniny (T3). Wydzielanie TSH jest stymulowane przez peptyd podwzgórzowy, TRH (tyreoliberynę); ujemne sprzężenie zwrotne na sekrecję TSH wywierają T3 i T4.

Pierwotna nadczynność tarczycy może być obecnie łatwo zróżnicowana od eutyreozy za pomocą ultraczułego oznaczenia TSH-IRMA firmy DIAsource, charakteryzującego się wysoką czułością (0,025 μ IU/ml) i wysoką mocą różnicującą.

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

Oznaczenie DIASource TSH -IRMA jest metodą immunoradiometryczną, opartą na separacji w opłaszczonych probówkach. Mabs 1 – przeciwciała przechwytyjące – są umocowane do dolnej i wewnętrznej powierzchni plastikowej próbki. Kalibratory lub próbki, dodawane do próbek, będą na początku wykazywały niskie powinowactwo do Mabs1. Dodanie Mab2, przeciwciała sygnałowego oznakowanego ¹²⁵I zakończy etap i wywoła reakcję immunologiczną. Po przepłukaniu, stopień radioaktywności związanej z probówką odzwierciedla stężenie antygeny. Wykorzystywanie różnych Mabs pozwala na uniknięcie nadmiernej czułości.

V. DOSTARCZONE ODCZYNNIKI

Odczynniki	96 oznaczeń w zestawie	4 x 96 oznaczeń w zestawie	Kolor	Rekonstrukcja
 Probówki opłaszczone przeciwciałami anty TSH (przeciwciała monoklonalne)	2 x 48	8 x 48	żółty	Gotowe do zastosowania
 Ab ¹²⁵ I Przeciwciała (monoklonalne) anty- TSH oznakowane Jodem ¹²⁵ w buforze maleinianowym, zawierającym bydlęcą albuminę surowiczą, azydek (<0,1%), EDTA i czerwony barwnik.	1 fiolka 5,5 ml 700 kBq	4 fiolek 5,5 ml 4x700 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania
 CAL 0 Kalibratory 0 w surowicy bydlęcej z tymolem	1 fiolka liofil.	2 fiolek liofil.	żółty	Dodać 2 ml wody destylowanej
 CAL N Kalibratory 1 - 7 w surowicy końskiej z tymolem (dokładne wartości na etykietach fiolek)	7 fiolek liofil.	14 fiolek liofil.	żółty	Dodać 2 ml wody destylowanej
 WASH SOLN CONC Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	1 fiolka 10 ml	4 fiolek 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
 CONTROL N Kontrole 1 i 2 w plazmie pochodzenia ludzkiego z tymolem	2 fiolek liofil.	4 fiolek liofil.	srebrny	Dodać 1 ml wody destylowanej

Uwaga: μ IU kalibratora jest równoważne do 1 μ IU z 2th IRP 80/558.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:

1. Woda destylowana
2. Pipety do dostarczania objętości: 50 μ l, 200 μ l, 1 ml i 2 ml. (zaleca się stosowanie właściwych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
3. Mieszadło wirowe (700 rpm)
4. Mieszadło magnetyczne
5. Wytrząsarka próbek
6. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
7. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
8. Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%).

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. Kalibratory:** Rekonstruować kalibratory 0 - 7 przy pomocy 2 ml wody destylowanej.
- B. Kontrole:** Kontrole należy rekonstruować przy pomocy 1 ml wody destylowanej.
- C. Roboczy roztwór płuczący:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczającego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczającego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczający należy wylać pod koniec dnia.

VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstrukcją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykiecie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rozpuszczeniu, kalibratory i kontrole zachowują stabilność przez 8 dni w temperaturze od 2 do 8°C. W razie konieczności dłuższego przechowywania, niewielkie objętości powinny być przechowywane w temperaturze -20°C przez maksymalnie 3 miesiące. Unikać cykli rozmrażania i zamrażania.
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczający powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znacznik izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiole w temperaturze od 2 do 8°C.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Próbkę surowicy lub osocza muszą być przechowywane w temperaturze 2 -8°C.
- Jeżeli test nie jest wykonywany w ciągu 24 godzin, należy niewielkie objętości przechowywać w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania i rozmrażania.
- Oznaczenie surowicy lub osocza (EDTA lub heparyna) prowadzi do podobnych wyników.

$$Y(\text{surowica}) = 1,02 \times (\text{osocze hep.}) - 0,06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y(\text{surowica}) = 1,00 \times (\text{osocze z EDTA}) + 0,05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. PROCEDURA

A. Uwagi dotyczące obsługi

Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie daty ważności. Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową. Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie. Aby uniknąć zanieczyszczenia kryzowego do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste, jednorazowe końcówki pipet. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia. Przestrzegać czasów inkubacji. Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.

B. Procedura

1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontrole należy oznaczyć opłaszczone probówki w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 zwykłe probówki.
2. Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 200 μ l każdej substancji do odpowiednich próbek.
3. Dodać 50 μ l anty-TSH-¹²⁵I (znacznik izotopowy) do wszystkich próbek w tym do nieopłaszczonych próbek do całkowitego zliczania.
4. Delikatnie potrząsać (ręcznie) stojak z probówkami, aby uwolnić wszelkie, uwięzione pęcherzyki powietrza.
5. Inkubować przez 120 minut w temperaturze pokojowej na mieszadle wirowym (700 \pm 100 rpm).
6. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbki.
7. Przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczającego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczającego należy unikać wytwarzania piany.

8. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania).
9. Ponownie przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roztworu płuczącego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i aspirować (lub odlać).
10. Po ostatnim płukaniu, pozostawić próbki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu.
11. Zliczać próbki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

1. Obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
2. Na papierze milimetrycznym lub w kratkę wykreślić c.p.m. (rzędna) dla każdego kalibratora wobec odpowiadającego stężenia TSH (odciana) oraz wykreślić krzywą kalibracji przez punkty kalibratora, odrzucając oczywiste wartości odbiegające od linii środkowej.
3. Odczytać stężenie dla każdej kontroli i próbki przez naniesienie na krzywą kalibracyjną.
4. Redukcja danych przy pomocy komputera pozwoli uprościć te obliczenia. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

TSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Zliczanie całkowite		359316	100
Kalibrator	0,00 µIU/ml	123	0,03
	0,10 µIU/ml	572	0,16
	0,53 µIU/ml	1834	0,51
	1,54 µIU/ml	5284	1,47
	4,90 µIU/ml	16365	4,55
	14,00 µIU/ml	45387	12,63
	48,00 µIU/ml	122595	34,12
	90,00 µIU/ml	184397	51,32

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

A. Granica wykrywania

Limit Limitu (LoB), Limit Wykrywania (LoD) i Limit ilościowy (LoQ) określono zgodnie z wytycznymi CL17 EP17-A.

LoB obliczono przez pomiar wielokrotności pustego miejsca i obliczanie 95-cio percentyla rozkładu wartości testowych. Obliczono LoB w ilości wynoszącej 0,05 µIU / ml.

LoD obliczono zgodnie z opisem w wytycznych. Obliczono wartość LoD wynoszącą 0,09 µIU / ml.

LoQ obliczono, testując 5 próbek o niskim współczynniku 14 razy w innym teście. Obliczono wartość LoQ wynoszącą 0,12 µIU / ml przy CV 20%.

B. Swoistość

Hormony reagujące krzyżowo były dodane do kalibratora niskich i wysokich poziomów TSH. Oznaczano przybliżoną odpowiedź TSH.

Dodany hormon	TSH CAL 1 µIU/ml	TSH CAL 2 µIU/ml
-	0,09	49,00
LH 300 mIU/ml	0,80	47,86
FSH 300 mIU/ml	0,19	44,58
hCG 300000 mIU/ml	6,36	48,48

C. Precyzja

W SERII				POMIĘDZY SERIAMI			
Surowica	Oznaczenie powtórne	X ± S.D. (µIU/ml)	CV %	Surowica	Oznaczenie powtórne	X ± S.D. (µIU/ml)	CV %
A	10	0,26 ± 0,02	6,0	A	20	1,34 ± 0,06	4,1
B	10	1,82 ± 0,03	1,4	B	20	13,69 ± 0,29	2,1
C	10	33,95 ± 0,20	0,6				

SD Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

D. Dokładność

BADANIE ODZYSKU

Próbka	TSH dodana (µIU/ml)	TSH odzyskany (µIU/ml)	Odzysk (%)
Próbka 1			
Surowica	105	107	102
Osocze hep.	105	105	100
Osocze z EDTA	105	107	102
Próbka 2			
Surowica	0,62	0,65	105
Osocze hep	0,62	0,63	102
Osocze z EDTA	0,62	0,65	105

BADANIE ROZCIEŃCZENIA

Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (µIU/ml)	Stęż. zmierzone (µIU/ml)
1	1/1	71,64	71,64
	1/2	35,82	35,66
	1/4	17,91	17,35
	1/8	8,95	8,42
	1/16	4,48	4,44
	1/32	2,24	2,17
	1/64	1,12	0,95
	1/128	0,56	0,51
	1/256	0,28	0,19
	1/512	0,14	0,08

Próbki zostały rozcieńczone przy pomocy kalibratora zerowego

E. Opóźnienie pomiędzy oznaczeniem ostatniego kalibratora i dozowaniem próbki

Jak wykazano, wyniki pomiaru pozostają dokładne nawet wówczas, gdy od momentu dodania kalibratora do opłaszczonych próbek minęło 30 minut.

OPÓŹNIENIE

	0'	10'	20'	30'
S 1 (µIU/ml)	0,17	0,16	0,15	0,16
S 2 (µIU/ml)	34	34	34	36

F. Efekt hook'a

Próbka nasyciona 2500 µIU/ml daje wynik przekraczający ostatni punkt krzywej kalibracyjnej.

XIV. OGRANICZENIA

- Próbki od pacjentów, którzy w celach diagnostycznych lub terapeutycznych otrzymywali preparaty z mysich przeciwciał monoklonalnych, mogą zawierać ludzkie przeciwciała anti-mysie (HAMA). Próbki takie, oznaczane z użyciem zestawów testowych wykorzystujących mysie przeciwciała monoklonalne, mogą wykazywać wartości fałszywie zawyżone lub zaniżone.
- Przeciwciała heterofilne w ludzkiej surowicy mogą reagować z immunoglobulinami odczynnika, interferując z oznaczeniami immunologicznymi przeprowadzanymi in vitro. Pacjenci rutynowo ekspozowani na zwierzęta lub produkty z surowic zwierzęcych mogą wykazywać skłonność do takich interferencji i w razie obecności przeciwciał heterofilnych występować mogą u nich nieprawidłowe wyniki testów. Wyniki oznaczeń próbek od pacjentów z takimi przeciwciałami należy interpretować z ostrożnością. Jeżeli wyniki nie są zgodne z obserwacjami klinicznymi, przed postawieniem rozpoznania powinny być uzyskane dodatkowe informacje.

XV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i/lub 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w takich objętościach. Nie wolno zamrażać i rozmrażać więcej niż dwukrotnie.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

XVI. ZAKRESY REFERENCYJNE

Te wartości są przedstawione wyłącznie w celach orientacyjnych; każde laboratorium powinno opracować własne zakresy norm.

Identyfikacja	Liczba osobników	Zakres (µIU/ml)
Eutyreozja	216	0,2 – 3,2
Nadczynność tarczycy	59	< 0,01 – 0,09
Niedoczynność tarczycy	26	6,3- 158

XVII. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki *in vitro*.

Zestaw zawiera ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35, keV).

Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie plamy z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anti-HCV, anti-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydłace pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.

Unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołowiem w układzie kanalizacyjnym tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

1. BAYER M.F., KRIS J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic Implication.
J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
2. CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
Lancet 1985; i: 1117-9

3. FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
4. MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.
High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.
Br. Med. J. 1985: 290:335-356.
5. MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
Clin. Chem. 1984;30:329
6. PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
In the thyroid., S. Wemer and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
7. RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
Lancet 1985; i: 277-8
8. ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
Ann. Intern. Med. 1986; 104:718-21
9. PETER S.A. et al.
Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).
Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6):346-9
10. JAIMELA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
Clin. Chem. 1994, Jan;40(1):101-105
11. KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
12. ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CAŁKOWITA LICZBA ZLICZEŃ ml	KALIBRATORY ml	PRÓBKA(I) KONTROLE ml
Kalibratory (0-7)	-	0,2	-
Próbki, kontrole	-	-	0,2
Znacznik izotopowy	0,05	0,05	0,05
Inkubacja	2 godziny w temperaturze pokojowej utrzymując wytrząsanie		
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Roztwór płuczący	-	2,0	
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Roztwór płuczący	-	2,0	
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		



bu

Прочетете целия протокол преди употреба

TSH-IRMA

I. УПОТРЕБА

Имунорадиометричен набор за количествено измерване *in vitro* на човешки тиреостимулиращ хормон (TSH) в серум и плазма.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

- A. Патентовано име: DIAsource TSH-IRMA Kit
- B. Каталоген номер: KIP1891: 96 теста
KIP1894: 4 x 96 теста
- C. Произведено от: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)10 84.99.11 Факс: +32 (0)10 84.99.91

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

Тиреотропните клетки в предния дял на хипофизата синтезират и секретират човешки тиреостимулиращ хормон (TSH), гликопротеин с молекулно тегло 28,000 Da, включващ две поединици: α -TSH е много подобен на α поединицата на LH, FSH и hCG, а β -TSH се различава от поединиците на останалите хормони и дефинира имунологичната специфичност.

TSH регулира синтеза и освобождаването на тиреоидните хормони тироксин (T4) и трийодотиронин (T3). Секретирането на TSH се стимулира от пептид на хипоталамуса, TRH (TSH освобождаващ хормон); отрицателна обратна връзка за секретирането на TSH се получава от нивата на T3 и T4.

Първичният хипертиреозидизъм сега се разграничава лесно от еутиреозидизма с помощта на свръхчувствителния набор DIAsource TSH-Irma, поради голямата му сензитивност (0.025 μ U/ml) и с високата разграничителна способност.

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

DIAsource TSH-IRMA е имунорадиометрично изследване на база на сепарация на покрити епруветки. Mabs1 (моноклонални антитела 1), които са прихващащи антитела, са разположени по долната и вътрешната повърхност на пластмасовата епруветка. Калибраторите или пробите, които се добавят към епруветките отначало показват слаб афинитет към Mabs1. Добавянето на Mabs2, които са сигнални антитела, маркирани с ¹²⁵I, завършват системата и пускат в ход имунологичната реакция. След измиване остатъчната радиоактивност, свързана с епруветката, отразява антигенната концентрация. Използването на няколко различни Mabs предотвратява развитието на хиперспецифичност.

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти	Количество во 96 теста	Количество о 4 x 96 теста	Цвете и код	Приготвяне
Епруветки, покрити с анти-TSH (моноклонални антитела)	2 x 48	8 x 48	жълт	Готов за употреба
Ab ¹²⁵ I Анти-TSH- ¹²⁵ I (моноклонални антитела) в трис буфер с малаец, с волски серумен албумин, азид (<0.1%), ЕДТК и инертна червена боя	1 флакон 5,5 ml 700 kBq	4 флакона 5,5 ml 4 x 700 kBq	червен	Готов за употреба
CAL 0 Нулев Калибратор във волски серум с тимол	1 флакон лиофилизиран	2 флакона лиофилизи рани	жълт	Добавете 2 ml дестилирана вода
CAL N Калибратори 1-7 във конски серум с тимол (виж точните стойности на етикетите на флаконите)	7 флакона лиофилизи рани	14 флакона лиофилизи рани	жълт	Добавете 2 ml дестилирана вода
WASH SOLN CONC Измиващ разтвор (TRIS-HCl)	1 флакон 10 ml	4 флакона 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
CONTROL N Контроли 1 и 2 в човешки плазма с тимол	2 флакона лиофилизи рани	4 флакона лиофилизи рани	сребърен	Добавете 1 ml дестилирана вода

Забележка: 1 µIU от калибрирания препарат е еквивалентен на 1 µIU от 2nd IRP 80/558.

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

1. Дестилирана вода
2. Пипети от: 50 µl, 200 µl, 1 ml и 2 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с крайници за еднократна употреба).
3. Завихрящ смесител
4. Магнитен сепаратор
5. Клатещо устройство за епруветки (700 rpm)
6. 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
7. Аспирационна система (по избор).
8. Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество ¹²⁵I (минимален капацитет от 70%)

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

A. Калибратори: Реконституирайте калибратори 0-7 с 2.0 ml дестилирана вода.

B. Контроли: Реконституирайте контролите с 1 ml дестилирана вода.

C. Работен измиващ разтвор: Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1

обем от измиващия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиващ разтвор в края на деня.

VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8°C преди отваряне или реконституиране.
- След реконституиране, калибраторите и контролите са стабилни за срок от 8 дни при температури 2-8°C. За по-дълги срокове на съхранение, се определя кратно и се съхранява при температура -20 °C за максимум 3 месеца. Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Прясно приготвения Работен измиващ разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът и плазмата трябва да се съхраняват при температури 2 – 8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 24 часа, се препоръчва съхранение при температура -20°C.
- Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Серумът, хепаринизираната плазма или плазмата с EDTA показват подобни резултати.

$$Y(\text{серум}) = 1,02x(\text{хепаринизирана плазма}) - 0,06 \quad r = 1 \quad n = 7$$

$$Y(\text{серум}) = 1,00x(\text{плазма с EDTA}) + 0,05 \quad r = 1 \quad n = 7$$

X. ПРОЦЕДУРА

A. Общи бележки

Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партии китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура.

Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклащане или въртеливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен крайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба.

Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрили точността. Съобразявайте се с времето за инкубация.

Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

B. Процедура

1. Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
2. Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 200 µl от всяко в съответните епруветки.
3. Разпределете 50 µl от анти-TSH-¹²⁵I трейсер във всяка епруветка, включително и в епруветките без покритие за общия брой импулси.
4. Разтърсете нежно с ръка стойката с епруветките, за да освободите някое остатъчно въздушно мехурче.
5. Инкубирайте за 2 часа при стайна температура върху клатещо устройство за епруветки (700 ± 100 rpm).
6. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
7. Изплакнете епруветките с 2 ml от Измиващия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Избягвайте получаването на пяна по време на добавянето на Работния измиващ разтвор.
8. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси).
9. Изплакнете отново епруветките с 2 ml от Измиващия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси) и аспирирайте (или прелейте).
10. След последното изплакване, оставете епруветките да стоят обърнати нагоре за две минути и аспирирайте останалите капчици от течността.
11. Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
- На полулогаритмична или линейна диаграма върху графична хартия нанесете (на ординатата) броят на минута за всеки калибратор (общ брой импулси в минута) спрямо (на абсцисата) съответната концентрация на TSH и начертайте калибрационна крива през калибрационните точки като не включвате точките, които очевидно не принадлежат към тази крива.
- Прочетете концентрациите за всяка контрола и проба чрез интерполиране върху калибрационната крива.
- Тези изчисления могат да се улеснят чрез асистирано редуциране на данните посредством компютър. Ако се използва автоматична обработка на резултатите, се препоръчва прилагането на 4-параметрова логистична функционална крива.

XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна крива.

TSH-IRMA		cpm	В/Т (%)
Общ брой		359316	100
Калибратор	0,00 μIU/ml	123	0,03
	0,10 μIU/ml	572	0,16
	0,53 μIU/ml	1834	0,51
	1,54 μIU/ml	5284	1,47
	4,90 μIU/ml	16365	4,55
	14,00 μIU/ml	45387	12,63
	48,00 μIU/ml	122595	34,12
	90,00 μIU/ml	184397	51,32

XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

A. Определен лимит

Границата на заготовката (атака), граница на откриване (LOD) и границата на количествено определяне (LOQ), се определя в съответствие с CLSI насока EP17-A.

На задна ножица, се изчислява чрез измерване на празните няколко пъти и изчисляване на 95ти процентил на разпределението на стойностите на изпитване. Най напред се изчислява на 0.05 μIU / мл. В LOD се изчислява, както е описано в насока. В LOD бе изчислена на 0.09 μIU / мл.

В LOQ се изчислява чрез тестване 5 проби на ниска стойност 14 пъти в различни тестове. В LOQ се изчислява на 0.12μIU / мл с CV 20%.

B. Специфичност

Хормони с кръстосана реактивност са добавени към калибратор за ниски и високи стойности на TSH. Явният TSH отговор е измерен.

добавен хормон	TSH CAL 1 μIU/ml	TSH CAL 2 μIU/ml
-	0,09	49,00
LH 300 mIU/ml	0,80	47,86
FSH 300 mIU/ml	0,19	44,58
hCG 300000 mIU/ml	6,36	48,48

C. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО

Серум	N	<X>±S.D. μIU/ml	CV (%)	Серум	N	<X>±S.D. μIU/ml	CV (%)
A	10	0,26 ± 0,02	6,0	A	20	1,34 ± 0,06	4,1
B	10	1,82 ± 0,03	1,4	B	20	13,69 ± 0,29	2,1
C	10	33,95 ± 0,20	0,6				

SD : Стандартно отклонение; CV: Коэффициент на вариация

D. Точност

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

Проба	Добавен TSH (μIU/ml)	Възстановен TSH (μIU/ml)	Възстановяване (%)
Проба 1 Серум Хепаринизирана плазма Плазма с EDTA	105	107	102
	105	105	100
	105	107	102
Проба 1 Серум Хепаринизирана плазма Плазма с EDTA	0,62	0,65	105
	0,62	0,63	102
	0,62	0,65	105

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ

Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (μIU/ml)	Измерена концентрация (μIU/ml)
1	1/1	71,64	71,64
	1/2	35,82	35,66
	1/4	17,91	17,35
	1/8	8,95	8,42
	1/16	4,48	4,44
	1/32	2,24	2,17
	1/64	1,12	0,95
	1/128	0,56	0,51
	1/256	0,28	0,19
	1/512	0,14	0,08

Пробите са били разредени с нулев калибратор.

E. Закъснение

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 30 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруетка.

Закъснение

	0'	10'	20'	30'
S 1 (μIU/ml)	0,17	0,16	0,15	0,16
S 2 (μIU/ml)	34	34	34	36

F. Ефект на кукичката

Пробите, съдържащи до 2500 μIU/ml TSH, дават по-високи резултат спрямо последната точка на калибриране.

XIV. ОГРАНИЧЕНИЯ

- Проби от пациенти, които са приели препарати от миши моноклонални антитела за диагностика или лечение, могат да съдържат човешки анти-миши антитела (НАМА). Тези проби могат да покажат или фалшиво повишени, или намалени стойности, когато се тестват с китове, които използват миши моноклонални антитела.
- Хетерофилните антитела в човешкия серум могат да реагират с реагентните имуноглобулини, смущавайки ин витро имунотестовите. Пациенти, рутинно изложени на животни или на продукти от животински серум, могат да бъдат предразположени към тези смущения и могат да се наблюдават аномални стойности в случай на наличие на хетерофилни антитела. Внимателно преценявайте резултатите на пациенти, за които има подозрения, че имат от тези антитела. Ако резултатите не са съвместими с други клинични наблюдения, ще се изисква допълнителна информация преди поставяне на диагноза.

XV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни проби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

XVI. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности.

Идентификация	Брой субекти	Интервал (μIU/ml)
Еутиреоидизъм	216	0,2 – 3,2
Хипертиреоидизъм	59	< 0,01 - 0,09
Хипотиреоидизъм	26	6,3- 158

XVII. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.

Този набор съдържа ¹²⁵I (полуживот: 60 дни), емитиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (35.5 keV) лъчения.

Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извършва в определена за целта територия, далеч от регулярни зони на преминаване. В лабораторията трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и стъклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радионуклиди.

Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.

Всички животински продукти и деривати са били събирани от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска серумна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третират като потенциално инфекциозни.

Избягвайте каквото и да било кожен контакт с реагентите (съдържат натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със силна и обилна струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.

Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пипетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

XVIII. БИБЛИОГРАФИЯ

- BAYER M.F., KRISS J.P., McDOUGALL I.R.
Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements: diagnostic and therapeutic Implication.
J. Nucl. Med. 1985, 26:1248-56.
- CALDWELL G., KELLET H.A., GOW S.M., et al.
A new strategy for thyroid function testing.
Lancet 1985,i: 1117-9
- FIELD J.B.
Pituitary thyrotropin: Mecanism of action.
In the thyroid, S. Werner and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagestown, M.D., 1978.
- MARDELL R.T., GAMBER T.R., WINTON M.R. J.
High sensitivity assay of thyroid stimulating hormone in patients receiving thyroxine for primary hypothyroidism and thyroid carcinoma.

Br. Med. J. 1985: 290:335-356.

- MUSTO J.D., PIZZOLANTE J.M. and CHESARONE V.P.
A comment on thyrotropin measurement and evaluation.
Clin. Chem. 1984;30:329
- PIERCE J.C.
Pituitary thyrotropin: Chemistry.
In the thyroid., S. Wemer and S.H. Ingbar. Ed. Harper Row, Hagerstown, M.D. 1978.
- RODDIS M.J., BURRIN J.M., JOHANNSEN A., et al.
Serum thyrotropin: a first-line discriminatory test of thyroid function.
Lancet 1985; i: 277-8
- ROSS D.S.
New Sensitive immunoradiometric assays for thyrotropin (Review).
Ann. Intern. Med. 1986; 104;718-21
- PETER S.A. et al.
Elevated serum thyrotropin (TSH) levels in critically ill patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).
Exp. Clin. Endocrinol. 1993; 101(6);346-9
- JAIMELA E. et al.
Ability of two new thyrotropin (YSH) assays to separate hyperthyroid patients from euthyroid patients with ow TSH.
Clin. Chem. 1994, Jan;40(1);101-105
- KOMOROWSKI J. et al.
Stimulatory effect of thyrotropin (TSH) on interleukin 2 (IL2) release from human peripheral blood lymphocytes and dose-response study in vitro.
Horm. Metab. Res. 1993, Nov; 25(11); 598-9.
- ADRIAANSE R. et al.
Pulsatile thyrotropin and prolactin secretion in a patient with an mixed thyrotropin and prolactin secreting pituitary adenoma.
Eur. J. Endocrinol. 1994, Feb; 130(2); 113-20.

XIX. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ ml	КАЛИБРАТОРИ ml	ПРОБА (И) КОНТРОЛИ ml
Калибратори (0-7) Проби, контроли Трейсьър	- - 0,05	0,2 - 0,05	- 0,2 0,05
Инкубация	2 часа на стайна температура при непрекъснато разклащане		
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Измиващ разтвор	-	2,0	
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Измиващ разтвор	-	2,0	
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Броење	Отчетете епруветките за 60 секунди		