

# TSH

## Prueba ELISA para la determinación cuantitativa de Tirotropina (TSH) en suero humano

### Presentación del estuche

<b>[REF]</b>	54030	96 determinaciones	Estuche completo
<b>[IVD]</b>			

### Uso previsto

La tirotropina (TSH) es una hormona glicoprotéica de aprox. 28 kD, secretada por la glándula pituitaria anterior. Es considerada el indicador disponible más sensible para el diagnóstico del hipotiroidismo (pituitario) primario y secundario<sup>1,2</sup>. Aumento en la concentración de TSH en suero es un indicador sensible y temprano de disminución en la reserva tiroidea y en conjunto con la disminución de T4 se diagnostica hipotiroidismo primario. El incremento esperado de la TSH demuestra la clásica retroalimentación negativa del sistema entre las glándulas tiroideas y pituitaria. Además, la determinación de TSH es útil en la diferenciación del hipotiroidismo secundario y terciario de la enfermedad tiroidea primaria. En el hipotiroidismo secundario y terciario, las concentraciones de T4 son usualmente bajas y los niveles de TSH son generalmente bajos o normales.

### Principio - EIA directo de antígeno -

La prueba TSH ELISA de HUMAN está destinada al uso profesional Como una prueba de segunda generación, usa un anticuerpo monoclonal anti-TSH altamente específico que se fija en la superficie de los micropocillos. En el primer paso de incubación, las muestras, los calibradores o controles y el conjugado enzimático (anti-TSH marcada con peroxidasa) se mezclan y se forma el complejo tipo sandwich el cual se une a la superficie de los micropocillos por ser fijado al anticuerpo inmovilizado. Al final de la incubación, el exceso de conjugado enzimático y anticuerpos monoclonales son eliminados por lavado. Se agrega el reactivo sustrato (etapa 2) y el color resultante, el cual cambia a amarillo luego de agregar la solución de parada, es medido fotométricamente. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de TSH en la muestra.

La absorbancia de los calibradores y muestras se determina haciendo uso de un lector de micropocillos ELISA o sistemas completamente automatizadas (p.ej. instrumentos de las líneas HumaReader o ELISYS). La concentración se evalúa por medio de la curva de calibración la cual es establecida con los calibradores suministrados con el estuche .

### Reactivos y contenidos

<b>[MIC]</b>	12	<b>Tiras de micropocillos</b> (en portatiras) Tiras divisibles de 8 pocillos, recubiertos con anti-TSH (monoclonal, ratón)	
<b>[CAL]</b>	A - F	<b>Calibradores</b> tapas y etiquetas coloreadas (A: blanco, B: amarillo, C: verde, D: rojo, E: azul, F: negro) 6x2,0ml listos para usar (humanos) Concentraciones de TSH: 0 (A), 0,5 (B), 3,0 (C), 6,0 (D), 15,0 (E) y 30,0 (F) mUI/l.	
<b>[CON]</b>	13 ml	<b>Conjugado enzimático</b> (tapa blanca) listo para usar, <b>coloreado rojo</b> pH 6,25 ± 0,1 anti-TSH (cabra), marcado con Peroxidasa	
<b>[WS]20x</b> <b>5102</b>	50 ml	<b>Solución de lavado</b> (tapa blanca) Concentrado para 1000 ml pH 7,2 ± 0,2 Buffer TRIS 10 mmol/ NaCl 8 g/l	
<b>[SUB]</b> <b>5103</b>	13 ml	<b>Reactivo sustrato</b> (tapa negra) listo para el uso, sin color a azulado pH 3,6 ± 0,25 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) 1,2 mmol/l Peróxido de Hidrógeno ≤ 6,0 mmol/l	
<b>[STOP]</b> <b>5104</b>	15 ml	<b>Solución de parada</b> (tapa roja) Acido sulfúrico 0,5 mol/l	
	1	<b>Tira adhesiva</b>	

**Agentes preservantes:** Concentración total < 0,1 %

### Material suplementario recomendado pero no provisto en el estuche

Micropipetas, lavadora ELISA, lector de microplaca equipado con filtro 450 nm o con filtros 450/630-690 nm, agua desionizada.

### Estabilidad

Los reactivos son estables hasta las fechas de expiración señaladas en las etiquetas individuales cuando se almacenan a 2...8°C.

Después de abiertos, los reactivos deben almacenarse a 2...8°C y utilizarse dentro de 60 días.

### [MIC] (Código: TSH)

- Están selladas en un envase de aluminio con un desecante.
- Antes de abrir, las tiras deben estar a **temperatura ambiente**.
- Las tiras no utilizadas deberán ser devueltas al envase con cierre y almacenadas con el desecante. Las tiras almacenadas de esta manera a 2...8°C pueden ser usadas hasta la fecha de caducidad.
- No toque el borde superior o el fondo de los micropocillos con los dedos.

### Preparación de reactivos

Todos los reactivos deben estar a **temperatura ambiente** (15...25°C) antes del uso. Los reactivos que no están en uso deberían siempre estar almacenados a 2...8°C.

### Notas especiales

Los **reactivos de propósito general** con los denominaciones **[WS]20x** **5102**, **[SUB] 5103**, **[STOP] 5104** de diferentes lotes y pruebas son intercambiables entre estos lotes y pruebas.

### Solución de lavado de trabajo [WASH]

- Diluya 1 porción de **[WS]20x** con 19 porciones de agua desionizada fresca, por ejemplo : 50 ml **[WS]20x** + 950 ml = 1000 ml.
- Estabilidad: **60 días a 15...25°C**.

### Muestra

Suero

No use muestras hiperlipémicas o hemolizadas.

Las muestras pueden almacenarse por 5 días a 2...8°C, o por hasta 30 días a -20°C. **Congele y descongele solamente una vez.** Al descongelar una muestra debe ser homogeneizada. Elimine el material particulado por centrifugación o filtración.

### Procedimiento

**Siga el procedimiento exactamente como se describe.**

### Notas de uso

- U1:** No mezcle o use componentes de diferentes números de lote. No mezcle tapas de envases (riesgo de contaminación). No use reactivos después de sus fechas de expiración.
- U2:** No use reactivos que pueden ser contaminados o que tienen aspecto diferente o olen diferentemente que normal.
- U3:** Note el reparto **[CAL]**, las muestras y los controles cuidadosamente en la hoja provista en el estuche.
- U4:** **[MIC]** – saque el número requerido y colóquelos firmemente en el portatiras.
- U5:** **Analice** cada **[CAL]**, control o muestra **por duplicado. Pipetéelos en el fondo** de los micropocillos.
- U6:** **Siempre deben agregarse los reactivos en el mismo orden y tiempo para minimizar diferencias en los tiempos de reacción entre los micropocillos.** Es importante para obtener resultados reproducibles. El pipeteo de las muestras no debería exceder de 10 minutos. De lo contrario pipetee la curva **[CAL]** en las posiciones indicadas en la mitad del intervalo de la serie. Si se emplea más de una placa, repita la curva de calibración para cada placa.
- U7:** Evite/remueva burbujas de aire antes de las incubaciones y lecturas de absorbancia.
- U8:** **[SUB]** inicia y **[STOP]** termina una reacción cinética. **Evite la luz intensa** durante el desarrollo del color.
- U9:** **[MIC]** - **Después de cada pipeteo, agite suavemente durante 20-30 sec.** sin verter las soluciones para asegurar una buena mezcla. Si está disponible, mezcle en un mezclador de pocillos (p.ej. HumaReader).
- U10:** Cierre firmemente los viales con las tapas respectivas después del uso.

### Procedimiento de lavado

**El procedimiento de lavado es crítico.** Un lavado insuficiente producirá una mala precisión o absorbancias falsamente elevadas.

- L1:** Remueva las tiras adhesivas, aspire el contenido, agregue **[WASH]**, aspire después de aproximadamente 30 sec. de enjuague y repita el lavado 4 veces.
- L2:** En el caso de lavadores automáticos, se deben llenar y enjuagar con **[WASH]** y después lavar los pocillos 5 veces. Asegúrese que el lavador llene los pocillos completamente y los aspire eficientemente después de 30 sec. (líquido remanente: < 15 µl).
- L3:** Después del lavado, **remueva el líquido remanente** invirtiendo los micropocillos sobre papel absorbente.

## Esquema de pipeteo

Los reactivos y las muestras deben estar a temperatura ambiente antes del uso.		
Etapa 1		Pocillo [μl]
	A1...D2 Calibradores	E2... Muestras
[CAL] A-F; en duplicado	50	--
Muestras, controles; en duplicado	--	50
[CON]	100	100
Mezcle y cubra [MIC] con tira adhesiva		
Incube por 60 min. a 20...25°C		
Lave 5 veces como se describe (ver L1 – L3)		
[WASH]	300	300
Etapa 2		
[SUB]	100	100
Incube por 15 min. a 20...25°C (ver U8)		
[STOP]	100	100
Mezcle cuidadosamente		
Mida la absorbancia a <b>450 nm</b> lo más pronto posible o <b>dentro de 30 min.</b> después de terminar la reacción usando una longitud de onda de referencia de 630-690 nm (si está disponible).		

## Validación de la prueba

Los resultados son válidos si se cumplen los siguientes criterios:

La absorbancia media (DO) de [CAL]  $F \geq 1,2$ .

La diferencia entre los duplicados de [CAL]  $F$  no excede de un 10%.

## Cálculo

Grafique las absorbancias medidas contra las concentraciones de [CAL] en papel milimetrado lineal. La interpolación apropiada de los puntos medidos graficados da lugar a una curva de calibración desde la cual puede determinarse la concentración del analito en la muestra.

Para calcular las concentraciones del analito, seleccione una opción apropiada y validada para el cálculo de la curva (recomendación: punto a punto).

## Control de calidad

Según las buenas prácticas de laboratorio (GLP) deben analizarse controles con cada curva de calibración. Para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, debe efectuarse un número estadísticamente significativo de controles para establecer los valores medios y rangos aceptables. Las muestras de control de calidad deben analizarse según las regulaciones locales. Los resultados deben estar dentro de los rangos establecidos.

## Interpretación de resultados

La concentración de TSH en el suero depende de una diversidad de factores: función del hipotálamo, función del tiroides, y la respuesta de la pituitaria a la TRH. Así, la concentración de la tirotropina por sí sola no es suficiente para llegar a un diagnóstico clínico definido. La TSH puede estar elevada por acción farmacológica. Domperidona, amiodazona, yodo, fenobarbital, y fenitoína han sido reportadas como drogas que incrementan los niveles de TSH. Una disminución de la TSH ha sido reportada con la administración de propanolol, metimazol, dopamina y D-tiroxina. Variaciones genéticas o degradación de la TSH intacta en las subunidades pueden afectar las uniones características de los anticuerpos e influir en el resultado final. Tales muestras normalmente dan diferentes resultados con varias técnicas debido a la reactividad de los anticuerpos involucrados.

## Valores esperados

Valores de referencia de una población eutiroides <sup>5,6</sup>:

Rango Normal: 0,3 – 4,0 mUI/l TSH

Cada laboratorio debe determinar sus propios rangos de referencia utilizando los instrumentos/equipos, métodos de colección de sangre y técnicas de análisis usuales empleados normalmente en dicho laboratorio.

## Características de ejecución

La prueba TSH ELISA como análisis de la segunda generación tiene una sensibilidad analítica de  $< 0,10$  mUI/l TSH y puede por lo tanto distinguir la población hipertiroides de la población eutiroides.

El análisis se estandarizó según el estándar OMS 2° IRP (80/558) para TSH.

Las características de ejecución de la prueba pueden consultarse en el informe de verificación, accesible vía

[www.human.de/data/gb/vr/el-tsh.pdf](http://www.human.de/data/gb/vr/el-tsh.pdf) o

[www.human-de.com/data/gb/vr/el-tsh.pdf](http://www.human-de.com/data/gb/vr/el-tsh.pdf)

Si no puede acceder a las características de la ejecución vía internet, póngase en contacto con su distribuidor local quien se las proporcionará sin costo alguno.

## Nota

Los componentes del estuche son estables hasta la fecha de caducidad aún después de abiertos. Sin embargo, la posibilidad de una contaminación está directamente relacionada con el número de tomas del reactivo. Por lo tanto, el límite de 60 días en viales abiertos se fijó por razones de seguridad.

## Notas de seguridad

### [STOP] Atención

#### • Indicaciones de peligro

H315 Provoca irritación cutánea..

H319 Provoca irritación ocular grave.

### [SUB] Peligro

#### • Indicaciones de peligro

H360D Puede dañar al feto.

#### • Consejos de prudencia

[CAL] [CON] [WS] [20x] [SUB] [STOP]

P234 Conservar únicamente en el recipiente original.

P260 No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

P262 Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa.

P281 Utilizar el equipo de protección individual obligatorio.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P337+P313 Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

P401 Almacenar de acuerdo con las regulaciones locales/regionales/nacionales/internacionales.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con las regulaciones locales/regionales/nacionales/internacionales.

Los controles han sido encontrado negativos para HBsAg y anticuerpos contra VHC y VIH1+2 en los donantes.

## Referencias

- Barker S. B., Journal Biological Chemistry **173**, 175 (1948)
- Chopra I. J. *et al.*, J. Clinical Endocrinol. **33**, 865 (1971)
- Young D. S. *et al.*, Clinical Chemistry **21**, 3660 (1975)
- Sterling L., Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland CRC Press, p. 19 - 51 (1975)
- Demers L. M. *et al.*, NACB Laboratory Medicine Practice Guidelines, Laboratory Support for the Diagnosis of Thyroid Disease **13**, 33 (2002)
- Kratzsch J. *et al.*, Clinical Chemistry **51**, 1480 (2005)

EL-TSH

INF 5403H01 E

02-2018-35



Human Gesellschaft für Biochemia und Diagnostica mbH  
Max-Planck-Ring 21 · 65205 Wiesbaden · Germany  
Telefon +49 6122-9988-0 · Telefax +49 6122-9988-100 · e-Mail [human@human.de](mailto:human@human.de)