

INDICACIONES DE USO

Inmunoensayo para la determinación cuantitativa de la concentración de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) en suero o plasma.

RESUMEN Y APLICACIÓN

La determinación de niveles de plasma o suero de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) está reconocido como un método sensible en el diagnóstico primario y secundario de hipertiroidismo.

DESCRIPCION

La TSH es un método de Elisa tipo sándwich en fase sólida. Las muestras y el conjugado Anti-TSH-HRP/Biotina son agregados a los pocillos recubiertos con Estreptavidina. El TSH en las muestras de pacientes forma un sándwich dos cuerpos específicos de TSH. Las proteínas y el conjugado no unidos son lavados por el buffer de lavado.

Tras la adición del sustrato, la intensidad del color es proporcional a la concentración de TSH en las muestras. La curva estándar se prepara relacionando la intensidad del color de los estándares con su concentración.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Micropozos recubiertos con estreptavidina	12x8x1
2. Estándares de TSH: 7 viales (listos para uso)	0.5 ml.
3. TSH Enzima conjugada concentrada	12 ml.
4. Sustrato TMB 1 frasco (lista para su uso)	12 ml.
5. Solución de Paro 1 frasco (lista para su uso)	12 ml.
6. Buffer de Lavado Concentrado (20X)	25 ml.
7. Inserto	1
8. Certificado de análisis	1

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el equipo a una temperatura de entre 2°C a 8°C. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio. No exponga los reactivos al calor, sol o luz intensa. Mantenga en un lugar seco. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Recolecte sangre por venopunción. Separe el suero por centrifugación. EVITE AGREGAR ANTICOAGULANTES A LA MUESTRA. En caso de no hacer el examen inmediatamente, refrigere la muestra 2°- 8°C o congele.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°- 25°C) antes de su uso.

Agitar el contenido del frasco solución buffer de lavado. Diluir 25 ml de solución buffer concentrada (20X) con 475 ml de agua destilada para llegar a una concentración 1X.

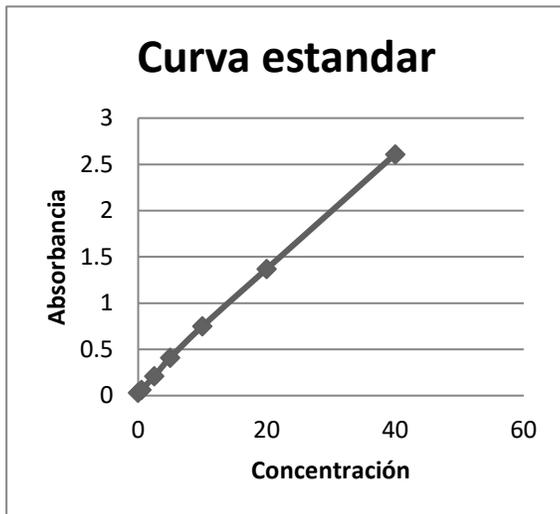
PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en la charola. Lleva a cabo la identificación adecuada de las muestras.
2. Agregue 50 µl de estándar, muestras y controles en los respectivos Micropozos.
3. Agregue 100 µl de Enzima conjugada en cada Micropozo. Agite suavemente por 30 segundos.
4. Cubra los pozos e incube con agitación a temperatura ambiente (18° - 25°C) durante 60 minutos.
5. Deseche el líquido golpeando el contenido de los micropozos a un recipiente de desechos. Enjuague los micropozos 4 veces con 300 µl de solución buffer 1x (no utilice agua de la llave) golpee los pozos firmemente hacia el papel absorbente para quitar las gotas de agua residuales.
6. Deposite 100 µl de solución TMB en cada micropozo. Mezcle suavemente por 5 segundos.
7. Incube a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Detenga la reacción agregando 50 µl de solución de paro a cada micropozo. Mezcle suavemente.
9. Lea la absorbancia a 450nm durante los primeros 15 minutos con un Lector de Elisis.

EL PUNTO DE LAVADO DE MICROPOZOS ES CRÍTICO YA QUE UN POBRE LAVADO DARÁ COMO RESULTADO IMPRECISIÓN O LECTURA ELEVADA FALSA DE LA PRUEBA.

Ejemplo de la curva estándar:

	Absorbancia 450 nm	Conc. µU/ml
Std 1	0.033	0
Std 2	0.062	0.5
Std 3	0.21	2.5
Std 4	0.41	5
Std 5	0.75	10
Std 6	1.37	20
Std 7	2.61	40



VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

Cada laboratorio se le recomienda establecer sus propios criterios de interpretación de pruebas basado en muestras de poblaciones encontradas. A continuación se presenta una guía para la interpretación del presente en los resultados de las pruebas de TSH.

CLASIFICACION	RANGO NORMAL $\mu\text{U/mL}$
Adultos	0.4-4.2
Recien nacidos (1-4 dias)	1.0-39
2-20 semanas	1.7-9.0
21 semanas-20 años	0.7-6.4

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. No utilice acido de sodio como conservador. La acido de sodio inhibe la actividad de la enzima conjugada.
2. La prueba de los resultados obtenidos con el kit sólo sirve como ayuda para el diagnóstico y deben interpretarse en relación con la historia del paciente, la búsqueda de física y otros procedimientos de diagnóstico.

REFERENCIAS

1. Soos and Siddle K. J. Immunol Methods 1982; 51; 57-68
2. Wada HG, Danisch RJ and Baxter S.R. Clin. Chem 1982; 28: 1862-1866.
3. Uotila M, Ruoslathi E. and Engvall E. JImmunol Methods 1981; 42:11-15.
4. Burger HG and Patel YC. Thyropin relasing hormone – TSH Clinic Endocrinol and Metab. 1977; 6 831.
5. Snyder P.J. and Utiger R.D. J. Clin Endocrinol Metab 1972; 34: 380 – 385.