

TSH-CTK-3

DiaSorin

Imunoradiometrická analýza (IRMA) pro kvantitativní stanovení thyrotropinu (TSH) v lidském séru (systém potažených zkumavek)

REF	209-100	209-200
	100 stanovení	200 stanovení

DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc
13040 Saluggia (VC)
Italy

Servis
Tel.: +39-0161-487-093
Fax: +39-0161-487-628

Uživatelská příručka pro TSH-CTK-3

Datum: 19.02.2009

Tato verze nahrazuje všechny dřívější verze uživatelských příruček

Změny obsahu ve srovnání s předchozí verzí

- Nová verze



2-8°C

Obsah soupravy

	CONT	REF 209-100 	REF 209-200
A	Ab ¹²⁵ I	1 x 21 mL < 1 x 600 kBq	2 x 21 mL < 2 x 600 kBq
C	SORB	2 x 50	4 x 50
W	BUF WASH 50x	2 x 11 mL	3 x 11 mL
S0 – S6	CAL	7 x 0,5 mL	7 x 0,5 mL
K1 – K3	CONTROL	3 x 0,5 mL	3 x 0,5 mL

Indikátor, jódem-125 značená anti-thyrotropin protilátka (monoklonální, myší), červené barvy, připraveno k použití.

Potažené zkumavky, potažené anti-thyrotropin protilátkou (monoklonální, myší), připraveno k použití.

Promývací univerzální roztok, koncentrovaný.

TSH standardy (lidské sérum), připraveno k použití, koncentrace viz příloženou příbalovou informaci pro kontrolu kvality.

TSH kontrolní séra K1, K2 a K3 (lidské sérum), připraveno k použití, koncentrace viz příloženou příbalovou informaci pro kontrolu kvality.

Úvod

TSH-CTK-3 je imunoradiometrická analýza pro kvantitativní stanovení thyrotropinu (hTSH) v lidském séru. Používá se rozdíl dvou monoklonálních protilátek, které rozpoznají různá vazebná místa na antigenu (TSH). Jedna z nich je značená jódem-125 (indikátor), druhá je imobilizována na vnitřním povrchu zkušavky (systém potažených zkušavek).

Během inkubace obě protilátky reagují s molekulami TSH ve vzorku a vytvoří komplex sendvičového typu navázaného na zkušavku (navázaná frakce B). Poté se zbylý přebytečný indikátor (volná frakce F) zředí a následně zcela odstraní.

Důležité poznámky

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu (např. lidské sérum). Tyto materiály byly testovány na přítomnost HBsAg, HIV I/II protilátek a HCV protilátek. Všechny testy byly negativní. Přesto je nutné s činidly a vzorky od pacientů zacházet opatrně, protože všechny materiály lidského původu jsou potenciálně nebezpečné.

Následující činidla soupravy obsahují konzervační látku azid sodný v koncentracích < 0,1 hmotnostních procent: indikátor A, standardy a kontroly. Tato činidla se nesmí požívat a je třeba zabránit kontaktu s kůží nebo sliznicemi.

Tento produkt obsahuje radionuklid jód-125 ve formě otevřené radioaktivní látky. Ionizující záření ve formě fotonového záření je emitováno energií přibližně 30 keV. Poločas rozpadu je 60 dní. Tento produkt je nutno uchovávat chráněný a zabezpečený proti ztrátě. Musí se likvidovat jako radioaktivní odpad.

Standardizace a referenční rozsahy

Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila vlastní referenční rozsahy na reprezentativním vzorku pacientů a/nebo provedla test validity dat komerčně dostupné testovací soupravy výrobce. Toto umožní identifikaci lokálních vlastností a variací při prevalenci určitých nemocí štítné žlázy a dysfunkcí, a rovněž poslouží jako test metodologické kvality jednotlivých laboratoří a testovacích souprav. Údaje poskytnuté pro TSH-CTK-3 by proto měly být považovány za orientační.

	TSH [mIU/L] bazální	stimulované*
Normální zdravé osoby	0,3-4	3-25
Eutyreóza	0,4-4	2-25
Preklinická hypertyreóza	0,1-0,4	0,5-2
Hypertyreóza	< 0,1	< 0,1
Subklinická hypertyreóza	4-20	> 25
Primární hypertyreóza	> 20	>>25

* 30 minut po 200 µg TRH i.v.

Stabilita a skladovací podmínky

Všechna činidla a potažené zkušavky uchovávejte až do doby použití při teplotě 2 až 8°C v původních přepravních obalech. Dodržte doby použitelnosti uvedené na hlavním obalu a na štítcích lahvíček. Doba použitelnosti soupravy je určena dobou použitelnosti indikátoru.

Po 1 promývacím cyklu se změní radioaktivita zkušavek. Naměřená radioaktivita je přímo úměrná koncentraci TSH příslušného vzorku. Vzorky o známých koncentracích TSH (standardy) se používají k vytvoření koncentračního profilu radioaktivity (standardní křivka), pomocí kterého lze určit TSH hodnoty neznámých vzorků na základě jejich příslušné radioaktivity. TSH koncentrace v jednotkách mIU TSH/L jsou kalibrovány vůči WHO standardu 2. IRP 80/558.

Provedení popsané výše využívá dvou monoklonálních anti-hTSH-protilátek v kombinaci s technologií potažené zkušavky vede k rychlé, citlivé, přesné a snadno proveditelné analýze.

Pro zajištění přiměřené ochrany před zářením se musí zamezit proniknutí radioaktivních látek do organismu. Pracovní místnosti se musí větrat. Je zakázáno jíst, pít a kouřit. Při práci je nutno používat zástěru a ochranné rukavice. Zamezte zbytečnému setrvávání v blízkosti zdrojů záření. Doporučuje se vypočítat osobní dávku použitím vhodných měřících zařízení, např. filmových dozimetřů.

Přijem, nabytí, držení, použití a přeprava radioaktivního materiálu podléhá specifickým normám každé země.

V případě, že souprava s činidly obsahuje skleněné lahvičky, výslovně zdůrazňujeme, že u nich existuje riziko rozbití a následného poranění.

Činidla a odpad vznikající při testu je nutno likvidovat v souladu se specifikacemi místních orgánů.

Výsledky získané z této analýzy se musí vždy vyhodnotit v kombinaci s klinickým vyšetřením, anamnézou pacienta a ostatními nálezy ještě před provedením závažných opatření.

Kontrola jakosti: Musí se dodržet národní předpisy na zajištění jakosti pro kvantitativní testy ve zdravotnické laboratoři (současná verze). Například, správnost a přesnost testu lze monitorovat pomocí laboratorních kontrolních materiálů v rámci vlastního pracoviště a/nebo použitím komerčně dostupných kontrolních materiálů. Kontroly obsažené v soupravě musí například být použity pro každou dávku a výsledky musí ležet v přijatelném rozsahu, který je uvedený v příbalové informaci pro kontrolu kvality. Při získání neakceptovatelných kontrolních hodnot postupujte tak, jak je uvedeno ve standardních laboratorních diagnostických postupech pro určení příčiny, a implementujte nápravná opatření.

Literatura

1. J. H. Hershman, A. E. PeKary, L. Berg and C. T. Sawin: Serum thyrotropin and thyroid hormone levels in elderly and middle aged euthyroid persons. J. Amer. Geriatr. Soc. 41: 823-828 (1993)
2. K. Liewendahl: Thyroid function tests: Performance and limitations of current methodologies. Scand. J. Clin. Lab. Invest 52: 435-445 (1992)
3. J. T. Nicoloff and C. A. Spencer: The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays. J. Clin. Endocrinol. Metab. 71: 553-558 (1990)
4. C. A. Spencer, M. Takeuchi and M. Kazarosyan: Current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assay. Clin Chem 42(1):140-145 (1996)

Naředěný promývací roztok lze použít do 4 týdnů, pokud byl uchovávan při teplotě 2-8°C. Kontaminovaný promývací roztok se nesmí používat. Jedná se o případ, kdy je tekutina kalná nebo hodnota pH je < 6.

Postup testu

Schéma inkubace

1. Očíslujte	potažené zkušavky (a, b)	T	0	1-6	7 atd.
2. Napipetujte	nulový standard	μL	–	100	–
	standards	μL	–	–	100
	vzorky pacientů	μL	–	–	100
3. Napipetujte	indikátor	μL	200	200	200
4. Inkubujte		–	1 hodinu při 170-250 ot/min při pokojové teplotě (17-27°C)		
5. Napipetujte	promývací roztok	mL	–	2	2
6. Aspirujte nebo dekantujte		–	Zcela aspirujte nebo dekantujte supernatant.		
	Promyjte		opakujte promývací krok 2x s 2 mL promývacího roztoku		
7. Změřte radioaktivitu (doporučený čas odečtu: 1 min)					

Výpočet výsledků

Manipulace se vzorky

Doporučuje se použít sérum. Pokud se použije plazma, musí se vytvořit samostatné referenční hodnoty.

Bilirubin a hemolýza nemají žádný vliv na výsledek testu. Lipemická séra se nesmí používat, protože lipemie má tendenci ukazovat nižší hodnoty.

Pokud vzorky séra nejsou analyzovány bezprostředně po přípravě, lze je uchovávat 3 dny při teplotě 2-8°C nebo déle při teplotě -20°C. Musí se zamezit opakovanému zmrazení a rozmrazení.

Poznámky k provedení testu

Nepoužívejte žádná činidla po uplynutí doby použitelnosti vtištěné na štítku.

Jednotlivé komponenty soupravy jsou dokonale vzájemně sladěny. Pokud se zamění nebo smíchají komponenty z různých šarží, společnost DiaSorin S.p.A. nenes žádnou odpovědnost za přesnost výsledků. Promývací roztok lze běžně zaměňovat mezi soupravami T3-CTK, T4-CTK, fT4-CTK, TSH-CTK a Tg-CTK.

Ve větších testovacích sériích se činidla se stejným označením šarže kombinují.

Je nutné dodržet vyznačenou posloupnost jednotlivých kroků.

Vzorky pacientů o koncentraci vyšší než je měřicí rozsah se musí označit jako "> nejvyšší standard". Výsledek se nesmí extrapolovat. Příslušný vzorek pacienta se musí zředit a znovu otestovat. Další informace lze získat v oddělení zákaznických služeb společnosti DiaSorin S.p.A..

Postup testu

1. Příprava
 - Všechny komponenty soupravy a vzorky pacienta nechte zahřát na pokojovou teplotu.
 - Všechna tekutá činidla - včetně sér pacientů - před použitím lehce zamíchejte (zabraňte tvorby pěny).
 - Očíslujte potažené zkušavky (pokud možno použitím a, b pro duplikáty). Nepotažené zkušavky (T a, b) slouží pro měření celkové radioaktivity.
 - Připravte promývací roztok: naředte 11 mL koncentrátu s destilovanou vodou pro získání 550 mL. Před použitím jiných promývacích roztoků důrazně doporučujeme nejdříve kontaktovat výrobce nebo distributora.
2. Do zkumavek 0 a, b až 6 a, b napipetujte **100 μL každého standardu** se stoupajícími koncentracemi TSH. Do zkumavek 7 a, b, atd. napipetujte **100 μL každého vzorku pacienta nebo 100 μL kontrolního séra**.
3. Do každé zkušavky, včetně T a, b, napipetujte **200 μL indikátoru**. Zkušavky T a, b jsou nyní ponechány odděleně až do změření radioaktivity (viz bod 7).
4. Zkušavky přikryjte adhezivní fólií a **inkubujte na rotační třepačce (170-250 ot/min) po dobu 1 hodiny při pokojové teplotě (17-27°C)**.
5. Do všech zkumavek (kromě Ta, Tb) napipetujte **2 mL promývacího roztoku**.
6. Roztok ze všech zkumavek (kromě Ta, b) zcela **aspirujte nebo dekantujte. Opět promyjte zkušavky 2x s 2 mL promývacího roztoku**. Promytí celkem: 3.

Poznámka Pokud dáváte přednost dekantaci, umožněte odstranění zbytku tekutiny (zkumavky obraťte dnem vzhůru na sací papír alespoň 2 až 5 minut a umožněte odstranění kapiček).

7. Změřte radioaktivitu každé zkušavky včetně T a, b. **Doporučený čas odečtu: 1 minuta**.

Poznámka Za účelem zajištění vysoké senzitivity TSH-CTK-3, je třeba striktně zamezit jakékoli koncentraci měřicího zařízení a vnějšku zkumavek. Je třeba sledovat externí radiaci z jiných zdrojů.

Pečlivě dodržujte pokyny výrobce. Nesprávná manipulace s činidly může zkreslit výsledky testu. Společnost DiaSorin S.p.A. nepřijímá odpovědnost za chybné výsledky testu vyplývající z nesprávného skladování, používání nebo manipulace.

Dodatečně požadováno

- mikropipety (100, 200 μL)
- třepačka s kruživým pohybem
- detektor záření gama
- dávkovač (2 mL)

Charakteristiky testu

• Přesnost v rámci testů

Hodnoty pacientů uvedené níže byly určeny v jedné sérii analýz u 10ti násobného určení.

Pacient	Průměr [mIU/L]	Standardní odchyška [mIU/L]	Variační koeficient (%)
1	0,16	0,01	5,1
2	1,48	0,04	2,5
3	16,6	0,25	1,5

• Přesnost mezi testy

Hodnoty pacientů uvedené níže byly určeny dvojmo v 10 sériích analýz.

Pacient	Průměr [mIU/L]	Standardní odchyška [mIU/L]	Variation coefficient (%)
1	0,09	0,012	13,6
2	1,46	0,06	4,1
3	16,9	0,40	2,3

• Senzitivita

Analytická sensitivita odečtená z optimální křivky je **0,04 mIU/mL**. Vycházela ze 40ti násobného stanovení nulového standardu tak, jak je uvedeno níže: $x \text{ cpm} - 2 \text{ s odchyška}$ v cpm (počet odčítacích impulsů za minutu). **Senzitivita funkční analýzy** (20% variační koeficient mezit testy) je **0,07 mIU/L**.

Výpočet výsledků

Pro počítačové vyhodnocení TSH-CTK-3 je třeba vybrat hodnotící program (spline/unsmoothed), který vyhovuje specifické kombinaci procesoru a použitého měřicího zařízení.

Při počítání výsledku TSH-CTK-3 s použitím počítače nebo bez počítače se průměrné četnosti pulsů standardů (druhá souřadnice, logaritmická) vynesou vůči odpovídajícím koncentracím TSH (první souřadnice, logaritmická) za účelem získání standardní křivky. Průměrné četnosti pulsů neznámých vzorků se poté použijí ke stanovení odpovídajících koncentrací TSH.

Pro kontrolu vazebné kapacity IRMA systému se vypočítá B_6/T :

$$\frac{B_6}{T} (\%) = \frac{\text{průměrná četnost pulsů } 6 \text{ a, b}}{\text{průměrná četnost pulsů } T \text{ a, b}} \times 100$$

Navíc se vypočítá nespecifická vazba B_0/T :

$$\frac{B_0}{T} (\%) = \frac{\text{průměrná četnost pulsů } 0 \text{ a, b}}{\text{průměrná četnost pulsů } T \text{ a, b}} \times 100$$

B_0/T se normálně pohybuje v rozsahu 0,025 až 0,05%. B_6/T závisí na značném rozsahu inkubačních podmínek. Tento parametr analýzy se obvykle nalézá v rozsahu 25-40%.

Ohledně technické podpory kontaktujte prosím zákaznický servis společnosti DiaSorin S.p.A. nebo příslušného distribučního partnera / obchodního zástupce.

• Zkřížená reaktivita

Látka	Zkřížená reaktivita v %
HCG (lidský chorionický gonadotropin)	< 0,1
FSH (folikuli stimulující hormon)	< 0,01
LH (luteinizační hormon)	< 0,1

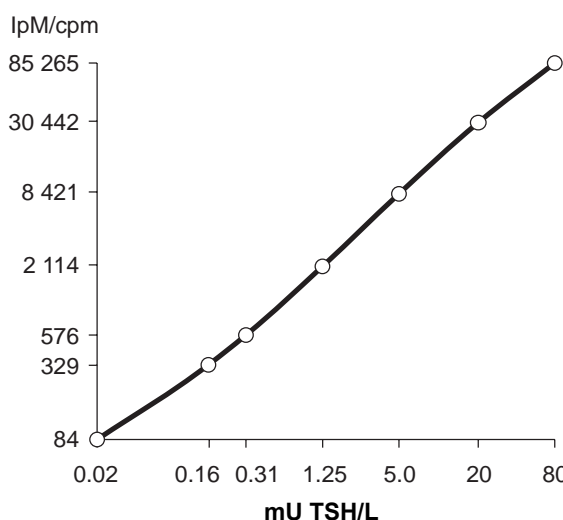
• Ředění

Vzorek	Ředění	Zjištěná hodnota [mIU/L]	Očekávaná hodnota [mIU/L]	Regenerace (%)
1	neředěné	55,2	55,2	100
	1:2	27,7	27,6	100
	1:4	14,1	13,8	102
	1:8	7,1	6,9	103
	1:16	3,6	3,5	104
2	neředěné	77,2	77,2	100
	1:2	40,7	38,6	105
	1:4	20,5	19,3	106
	1:8	10,2	9,7	106
	1:16	5,0	4,8	104

Příklad výpočtu

Zkumavka	cpm (a)	cpm (b)	cpm (průměr)	B/T (%)
Celková aktivita T	243 420	243 710	243 565	–
Nulový standard 0	92	76	84	0,03
Standard 1 (0,16 mIU/L)	316	342	329	0,14
Standard 2 (0,31 mIU/L)	580	572	576	0,24
Standard 3 (1,25 mIU/L)	2 170	2 058	2 114	0,87
Standard 4 (5,0 mIU/L)	8 235	8 607	8 421	3,46
Standard 5 (20 mIU/L)	31 042	29 842	30 442	12,50
Standard 6 (80 mIU/L)	83 865	86 665	85 265	35,01
Vzorek pacienta 7	412	426	419	0,17

Standardní křivka



Poznámka Pokud se zjistí, že celková aktivita T je snížena o více než 40% hodnoty T uvedené v tabulce, potom toto naznačuje výrazné snížení účinnosti detekce použitého detektoru záření gama. V těchto případech se musí TSH standard 1 eliminovat před výpočtem výsledků, jestliže se použije počítačem podporovaná analýza.