

Português**Função**

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da tirotropina em soro e plasma humanos.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características

A hormona estimuladora da tiróide (TSH, tirotropina) é uma glicoproteína com um peso molecular de cerca de 30 000 daltons, constituída por duas subunidades. A subunidade β inclui as informações imunológicas e biológicas específicas da TSH, enquanto que a cadeia α contém informações específicas da espécie e tem uma sequência de aminoácidos idêntica à das cadeias α de LH, FSH e hCG.

A TSH é formada nas células basófilas específicas da hipófise anterior e tem um ritmo de secreção circadiano. A libertação da TSH (hormona tirotrópica) pela hipófise é o principal mecanismo de regulação da acção biológica das hormonas da tiróide. A TSH tem uma acção estimuladora em todas as fases de formação e secreção da hormona da tiróide; tem também um efeito proliferador.¹²

A determinação da TSH é útil como teste inicial no diagnóstico da tiróide. Mesmo alterações muito ligeiras das concentrações das hormonas livres da tiróide conduzem a alterações contrárias importantes no nível de TSH. Por este motivo, a TSH é um parâmetro muito sensível e específico para a avaliação da função da tiróide, mostrando-se particularmente adequada para a detecção ou exclusão precoce de perturbações no sistema de regulação central entre o hipotálamo, a hipófise e a tiróide.^{3,4,5,6}

O teste Elecsys TSH utiliza anticorpos monoclonais especificamente dirigidos contra a TSH humana. Os anticorpos marcados com complexo de ruténio³ consistem numa unidade química de componentes específicos de origem humana e de rato. Como resultado, os efeitos de interferência causados pelos HAMA (anticorpos humanos anti-rato) são, em larga medida, eliminados.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Princípio do teste

Técnica de sandwich. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: 50 μ l de amostra, um anticorpo monoclonal biotinilado específico anti-TSH e um anticorpo monoclonal específico anti-TSH marcado com complexo de ruténio reagem entre si e formam um complexo sandwich.
- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, gerada especificamente no analisador por uma calibração de 2 pontos e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys TSH, Ref. 117314591 - 200 testes

M	Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 12 ml: Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml, capacidade de fixação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
R1	Anticorpo anti-TSH~biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 14 ml: Anticorpo monoclonal biotinilado anti-TSH (rato) 2,0 mg/l; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,2; conservante.
R2	Anticorpo anti-TSH~Ru(bpy) ₃ ²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 12 ml: Anticorpo monoclonal anti-TSH (rato/humano) marcado com complexo de ruténio 1,2 mg/l; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,2; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys TSH **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C:	12 semanas
no analisador MODULAR ANALYTICS E170:	6 semanas
no analisador Elecsys 2010:	8 semanas
no analisador Elecsys 1010:	8 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro é colhido em tubos de amostra padrão ou com gel separador.

Plasma tratado com heparina-Li, -Na, -NH₄⁺, EDTA-K₃, citrato de sódio e fluoreto de sódio/oxalato de potássio.

Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de $\pm 2 \times$ sensibilidade analítica + coeficiente de correlação $> 0,95$.

Estabilidade: 7 dias a 2-8°C, 1 mes a -20°C.⁷ Congelar apenas uma vez.

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Ao utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C).

Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 11731483, Elecsys TSH CalSet, 4 x 1,3 ml
- Ref. 11776479, Elecsys PreciControl TSH, 4 x 2 ml
- Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Ref. 03609987, Elecsys Diluent MultiAssay, 2 x 18 ml diluente de amostra
- Equipamento normal de laboratório
- Analisador Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170



Acessórios para os sistemas Elecsys 1010 e 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cuvetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cuvetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Apenas disponível nos EUA:

- Ref. 11776703, Elecsys TSH CalCheck, 3 intervalos de concentração

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisador Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra o "2nd IRP Reference Standard 80/558" da OMS.⁸

Cada dispositivo de reagentes Elecsys TSH contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do Elecsys TSH CalSet.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisador Elecsys 1010:

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)
- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)

Para todos os analisadores:

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

Verificação da calibração: Não é necessária. O software do analisador verifica automaticamente a validade da curva e alerta para eventuais desvios.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize Elecsys PreciControl Universal 1 e 2, Elecsys PreciControl TSH.

Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra em $\mu\text{UI/ml}$ ou mUI/l (seleccionável).

Limitações – interferências⁸

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 701 $\mu\text{mol/l}$ ou < 41 mg/dl), hemólise (Hb < 0,621 mmol/l ou < 1 g/dl), lipemia (Intralipid < 1.500 mg/dl) e biotina < 102 nmol/l ou < 25 ng/ml.

Critério: recuperação dentro de $\pm 10\%$ do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até 3.250 UI/ml e de amostras de pacientes sujeitos a diálise.

Não foi observado qualquer efeito "high-dose hook" com concentrações de TSH até 1.000 $\mu\text{UI/ml}$.

Foram efectuados testes in vitro com 26 fármacos frequentemente utilizados. Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Tal como acontece com todos os testes que contêm anticorpos monoclonais de rato, este teste pode produzir resultados errados em amostras colhidas em pacientes tratados com este tipo de anticorpos ou que os receberam para fins de diagnóstico.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para o ruténio.

O teste contém aditivos que minimiza este efeito.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição⁸

0,005-100,0 $\mu\text{UI/ml}$ (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). A sensibilidade funcional é de 0,014 $\mu\text{UI/ml}$.⁶ Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,005 $\mu\text{UI/ml}$. Os valores superiores ao intervalo de medição são indicados como > 100,0 $\mu\text{UI/ml}$ (ou até 1.000 $\mu\text{UI/ml}$ no caso das amostras diluídas 10 vezes).

Diluição

As amostras com concentrações de TSH superiores ao intervalo de medição podem ser diluídas com o Elecsys Diluent MultiAssay. A diluição recomendada é de 1:10 (feita automaticamente pelos sistemas MODULAR ANALYTICS E170 y Elecsys 1010/2010 ou manualmente). A concentração da amostra diluída tem de ser > 10 $\mu\text{UI/ml}$. Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo factor de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software do MODULAR ANALYTICS E170 e dos analisadores Elecsys 1010/2010 toma automaticamente em consideração a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Valores teóricos⁸

0,27-4,2 $\mu\text{UI/ml}$

Estes valores correspondem aos percentis 2,5 e 97,5 dos resultados obtidos num total de 516 indivíduos saudáveis.



Para obter informações mais pormenorizadas sobre intervalos de referência em crianças, adolescentes e grávidas, consulte a brochura "Reference Intervals for Children and Adults", Ref. do documento em inglês: 04640292001, em alemão: 04625889990.

Esta brochura contém também os resultados de um estudo detalhado sobre os factores que influenciam os parâmetros da tiróide num grupo de referência bem caracterizado de adultos. Foram aplicados critérios de inclusão e de exclusão diferentes (por ex. resultados de ecografias (volume e densidade da tiróide), bem como critérios que estão de acordo com as directrizes da National Academy of Clinical Biochemistry - NACB).

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho⁹

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controlos de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. O controlo Elecsys PreciControl TSH foi determinado uma vez ao dia durante 10 dias (n = 10). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Analisadores Elecsys 1010/2010	Precisão intra-ensaio			Precisão total	
	Média μUI/ml	DP μUI/ml	CV %	DP μUI/ml	CV %
Amostra					
Soro humano 1	0,034	0,003	8,6	0,003	8,7
Soro humano 2	0,91	0,02	2,1	0,03	3,3
Soro humano 3	3,96	0,07	1,8	0,14	3,6
PreciControl Universal 1	2,45	0,05	1,9	0,05	2,2
PreciControl Universal 2	10,67	0,16	1,5	0,19	1,8
PreciControl TSH	0,084	-	-	0,005	5,4

Analisador MODULAR ANALYTICS E170	Precisão intra-ensaio			Precisão total		
	Média μUI/ml	DP μUI/ml	CV %	Média μUI/ml	DP μUI/ml	CV %
Amostra						
Soro humano 1	0,040	0,001	3,0	0,035	0,003	7,2
Soro humano 2	0,092	0,002	2,7	0,151	0,005	3,2
Soro humano 3	9,37	0,102	1,1	3,66	0,120	3,3
PreciControl Universal 1	0,959	0,014	1,5	0,915	0,031	3,5
PreciControl Universal 2	8,13	0,098	1,2	7,52	0,316	4,2

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

0,005 μUI/ml

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Comparação dos métodos

Uma comparação do método Elecsys TSH (y) com o teste Enzymun-Test TSH (x), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações: Número de amostras medidas: 109

Passing/Bablok ⁹	Regressão linear
y = 1,01x + 0,01	y = 0,98x + 0,04
τ = 0,944	r = 0,993
DP (md68) = 0,060	Sy.x = 0,261

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 0 e 19 μUI/ml.

Especificidade analítica

No caso dos anticorpos monoclonais utilizados, observaram-se as seguintes reacções cruzadas:
LH 0,038%, FSH 0,008%; hGH e hCG sem reactividade cruzada.

Sensibilidade funcional

0,014 μUI/ml

A sensibilidade funcional é a concentração de analito mais baixa que pode ser medida de modo reprodutível com um coeficiente de variação inter-ensaio 20%.

Bibliografia

1. Wheeler MH, Lazarus JH. Diseases of the Thyroid. London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman and Hall Medical, 1994:109-115.
2. Pfannenstiel P, Saller B. Schilddrüsenkrankheiten Diagnose und Therapie. Berliner Medizinische Verlagsanstalt GmbH 1995;2:43-54.
3. Surks MI, Chopra IJ, Mariash CN, Nicoloff JT, Solomon DH. American Thyroid Association Guidelines for the Use of Laboratory Tests in Thyroid Disorders. JAMA 1990;263:1529-1532.
4. Keffer JH. Preanalytical Considerations in Testing Thyroid Function. Clinical Chemistry 1996;42:125-135.
5. Ladenson PW. Optimal laboratory testing for diagnosis and monitoring of thyroid nodules, goiter and thyroid cancer. Clin Chem 1996;42:1183-187.
6. Nicoloff JT, Spencer CA. The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays. J Clin Endocr Metab 1990;71:553-558.
7. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd edition. Philadelphia, Pa. WB Saunders Co. 1995:594.
8. Documentação da Roche Diagnostics.
9. Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à excepção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.
©2005 Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

