Bioclin

# BIOLISA TSH DBS

**REF K278**

## INSTRUÇÕES DE USO

**FINALIDADE**

Teste para determinação quantitativa de Hormônio Tireoestimulante ou Tireotropina (TSH) em amostras biológicas de sangue seco coletadas em papel filtro (DBS), para a triagem de hipotireoidismo em adultos e neonatos, através de teste de enzimaimunoensaio. Somente para uso de diagnóstico *in vitro*.

**PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático.

O kit BIOLISA TSH DBS é um ensaio imunoenzimático em fase sólida, baseado no princípio "sanduíche" para a detecção quantitativa do Hormônio Tireoestimulante (TSH) em amostras humanas de sangue seco coletadas em papel filtro (DBS). Para isso, a Placa Sensibilizada é revestida com anticorpos específicos contra um sítio antigênico presente exclusivamente nas moléculas de TSH. No primeiro momento, a amostra de sangue seco é adicionada na microplaca, eluída pelo Tampão de Eluição e incubada sob agitação. As moléculas de TSH presentes na amostra se ligam aos anticorpos anti-TSH aderidos à microplaca que, após a incubação, é lavada para remover os materiais não ligados. O Conjugado, constituído de anticorpos anti-TSH específicos conjugados à peroxidase, é adicionado e incubado, ligando-se às moléculas de TSH imobilizadas pelos anticorpos anti-TSH da microplaca. Uma nova lavagem é realizada para remover os materiais não ligados. Em seguida, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica proporcionalmente a quantidade TSH detectado na amostra. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação, havendo uma mudança na coloração de azul para amarelo, medido em um leitor de microplaca.

**REAGENTES**

**1 - Padrões Referência (A – F) -** Conservar entre 2 e 8 ºC. Contém: Um (1) papel filtro impregnado com seis (6) unidades de Padrões Referência (A - F), preparados em sangue, contendo Hormônio Tireoestimulante (TSH) em diferentes concentrações. As concentrações variam a cada lote (de 0 a 200 µUI/mL), vide rótulo. **Potencialmente infectante.**

**2- Conjugado -** Conservar entre 2 e 8 ºC. Contém: Solução tampão contendo anticorpos específicos anti-TSH ligados à peroxidase, estabilizantes, conservantes, surfactante e corante.

**3- Placa Sensibilizada -** Conservar entre 2 e 8 ºC. Contém: Placa sensibilizada com anticorpos específicos anti-TSH.

**4- Lavagem Concentrada -** Conservar entre 2 e 8 ºC. Contém: Solução tampão (fosfato < 0,5 mol/L, cloreto de potássio < 100 mmol/L, cloreto de sódio < 5 mol/L), surfactante e conservante.

**5- Substrato -** Conservar entre 2 e 8 ºC. Contém: Solução tampão contendo peróxido de ureia, tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.

**6- Solução de Parada -** Conservar entre 2 e 8 ºC. Contém: Ácido clorídrico 1M.

**7- Tampão de Eluição -** Conservar entre 2 e 8 ºC. Contém: Solução tampão, surfactante, estabilizante e conservante.

**8- Controles (1-2) -** Conservar entre 2 e 8 ºC. Contém: Um (1) papel filtro impregnado com duas (2) unidades de Controles, preparados em sangue, contendo Hormônio Tireoestimulante (TSH) em diferentes concentrações. As concentrações variam a cada lote, vide rótulo. **Potencialmente infectante.**

**APRESENTAÇÃO**

| REAGENTES | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| | 96 cavidades | 192 cavidades | 480 cavidades | 960 cavidades |
| 1- Padrões Referência (A-F) | 1 unidade | 2 unidades | 3 unidades | 5 unidades |
| 2- Conjugado | 1 Frasco x 12 mL | 1 Frasco x 24 mL | 1 Frasco x 60 mL | 1 Frasco x 100 mL |
| 3- Placa Sensibilizada | 1 unidade | 2 unidades | 5 unidades | 10 unidades |
| 4- Lavagem Concentrada | 1 Frasco x 50 mL | 1 Frasco x 100 mL | 1 Frasco x 250 mL | 1 Frasco x 500 mL |
| 5- Substrato | 1 Frasco x 12 mL | 1 Frasco x 24 mL | 1 Frasco x 60 mL | 1 Frasco x 100 mL |
| 6- Solução de Parada | 1 Frasco x 12 mL | 1 Frasco x 24 mL | 1 Frasco x 60 mL | 1 Frasco x 100 mL |
| 7- Tampão de Eluição | 1 Frasco x 20 mL | 1 Frasco x 40 mL | 1 Frasco x 100 mL | 1 Frasco x 200 mL |
| 8- Controles (1-2) | 1 unidade | 2 unidades | 3 Unidades | 5 unidades |

**EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS**

- Reagentes descritos no quadro anterior

**Materiais necessários não contidos no kit:**

**1-** Pipetas capazes de dispensar volumes de 100 a 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
**2-** Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 100 a 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
**3-** Lavadora de microplaca para técnica em papel filtro.
**4-** Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 620 nm de comprimento de onda.
**5-** Incubadora a temperatura ambiente com capacidade de agitação a 650 rpm.
**6-** Picotador de papel (diâmetro de 3 ± 0,2 mm).
**7-** Papel absorvente para secar as microcavidades.
**8-** Cronômetro ou relógio.
**9-** Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.
**10-** Água destilada ou deionizada.
**11-** Ferramentas de Controle de Qualidade.

**CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE**

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 ºC. O transporte em temperaturas até 30 ºC não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

**CUIDADOS ESPECIAIS**

**1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**
**2-** Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
**3-** O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8 ºC.
**4-** A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
**5-** Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.
**6-** A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
**7-** Toda matéria-prima do produto é testada sendo não reagente para HBsAg, Anti-HIV 1&2 e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém amostra biológica é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.
**8-** Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
**9-** Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
**10-** Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.
**11-** Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.
**12-** Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
**13-** Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha de Dados de Segurança) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
**14-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
**15-** É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

**AMOSTRAS**

**Sangue Seco coletado em papel filtro (DBS) – EDTA ou Punção**

O papel filtro utilizado dever ser específico para coleta de amostras de sangue seco, a exemplo dos modelos S&S 903 e Ahlstrom 226. O laboratório deve certificar da qualidade das amostras antes da sua utilização.

As amostras de sangue seco em papel filtro podem ser armazenadas por até 35 dias à temperatura ambiente, desde que fiquem protegidas de fonte de luz solar direta e em baixa umidade. Para armazenamento de até 2 anos, as amostras devem permanecer sob refrigeração, entre 2 e 8 °C. O armazenamento por tempo superior a 2 anos deve ser realizado à temperatura de -20 °C.[2]

**DESCRIÇÃO DO PROCESSO**

**Estabilidade Após Aberto**

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit BIOLISA TSH DBS é estável após aberto até 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica.

**PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO**

**Solução de Lavagem**

Diluir o conteúdo do frasco Nº 4 (Lavagem Concentrada) na proporção 1:20 em água destilada ou deionizada. Dessa forma, diluir 50 mL da solução de Lavagem Concentrada em água destilada ou deionizada, para um volume final de 1000 mL. Após o preparo, a solução pode ser estocada entre 2 e 30 ºC por até 30 dias. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

**Todos os demais reagentes são prontos para uso.**

**TÉCNICA**

**Para uso em equipamentos automáticos, consulte ao SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente).**

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, amostras, Padrões Referência e Controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 ºC) por, no mínimo, 40 minutos.
**1-** Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Padrões Referência (de A até F), Controles (1 e 2) e Amostras de sangue seco em papel filtro. Recomenda-se testar em duplicata. Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
**2-** Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).
**3-** Adicionar um disco de 3 mm de cada um dos Padrões Referência, Controles e amostras de sangue seco, previamente picotados, nas cavidades determinadas.
**4-** Pipetar 100 µL do Tampão de Eluição em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
**5-** Incubar por 120 minutos à temperatura ambiente (aproximadamente 25 ºC) e sob agitação constante de 650 rpm, podendo variar entre 550 e 750 rpm.
**Nota:** A agitação dentro da velocidade indicada é uma etapa crucial para a eluição eficiente das amostras de sangue seco e necessária para o correto desempenho do ensaio.
**6-** Retirar o selador das cavidades.
**7-** Após a incubação, descartar o conteúdo das cavidades por aspiração em Lavadora própria para técnica de papel filtro. Usar aproximadamente 300 µL de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem, com agitação de três (3) segundos ao final de cada ciclo. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.
**Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
**8-** Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
**9-** Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
**10-** Incubar por 60 minutos à temperatura ambiente (aproximadamente 25 ºC).
**11-** Retirar o selador de placa das cavidades.
**12-** Repetir o item 7.
**13-** Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
**14-** Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
**15-** Incubar por 30 minutos à temperatura ambiente (aproximadamente 25 ºC), protegido da luz.
**16-** Retirar o selador das cavidades.
**17-** Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
**18-** Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos.
**19-** Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 620 nm em até 10 minutos (no máximo).

**VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA**

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco e dos Padrões Referência estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

| ITEM | ABSORBÂNCIAS |
|---|---|
| Branco | < 0,100 |
| Padrão Referência A | < 0,100 |
| Padrão Referência B | > A e < C |
| Padrão Referência C | > B e < D |
| Padrão Referência D | > C e < E |
| Padrão Referência E | > D e < F |
| Padrão Referência F | > E |

Após a validação dos Padrões Referência, deve-se realizar a Curva de Calibração e o cálculo da concentração dos Controles, conforme descrito no item CÁLCULOS. Verifique se os resultados obtidos se encontram dentro da faixa referenciada no rótulo dos Controles.

Caso os valores de absorbância dos Padrões Referência e/ou a concentração dos Controles se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

**CÁLCULOS**

Uma curva de calibração é usada para determinar a concentração de TSH em amostras desconhecidas.

**Preparo da Curva de Calibração**

Caso tenham sido realizadas em duplicata, calcular as médias das absorbâncias obtidas na leitora de microplaca de cada um dos Padrões Referência (A-F), como no exemplo:

| Padrão Referência | Concentração (Vide Rótulo) | Absorbância | Absorbância Média |
|---|---|---|---|
| A | 0,0 | 0,039 | 0,042 |
| | | 0,045 | |
| B | 10,0 | 0,305 | 0,299 |
| | | 0,293 | |
| C | 20,0 | 0,507 | 0,503 |
| | | 0,498 | |
| D | 50,0 | 0,912 | 0,909 |
| | | 0,905 | |
| E | 100,0 | 1,415 | 1,407 |
| | | 1,399 | |
| F | 200,0 | 2,152 | 2,075 |
| | | 1,997 | |

Plotar as absorbâncias médias de cada Padrão Referência (A-F) versus a concentração correspondente em µUI/mL em papel milimetrado ou através de programas de computador. Traçar a curva ponto a ponto.

**Cálculo da Concentração de TSH das Amostras**
Calcular a concentração de cada amostra analisada a partir da Curva de Calibração feita no papel milimetrado, interpolando o valor de absorbância obtido na leitura da amostra com o valor em concentração (µUI/mL) correspondente. O cálculo da concentração das amostras testadas também pode ser realizado utilizando programas adequados de computador, através de regressão linear.

O intervalo de medição do kit situa-se entre 0,45 e 200,00 µUI/mL (sensibilidade analítica e ponto máximo da curva, respectivamente). Resultados situados abaixo do limite inferior de detecção devem ser expressas como <0,45 µUI/mL. Resultados situados acima do limite superior de detecção devem ser expressas como >200,00 µUI/mL.

**Nota:** Os dados apresentados são apenas para ilustração e não podem ser usados em substituição à curva de calibração, que deve ser construída no laboratório. Os Padrões Referência e os Controles fornecidos no kit devem ser sempre testados a cada novo ensaio.

**VALORES DE REFERÊNCIA**

| | | |
|---|---|---|
| **Adultos** | **Normal** | < 4,0 µUI/mL |
| | **Indeterminado / Limítrofe** | 4,0 – 5,5 µUI/mL |
| | **Alterado** | > 5,5 µUI/mL |

| | | |
|---|---|---|
| **Neonatos** | **Normal** | < 8,0 µUI/mL |
| | **Indeterminado / Limítrofe** | 8,0 – 12,0 µUI/mL |
| | **Alterado** | > 12,0 µUI/mL |

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

**LIMITAÇÕES DO PROCESSO**
**1-** O produto BIOLISA TSH DBS é destinado para o rastreamento de hipotireoidismo em adultos e neonatos. Pacientes com valores limítrofes e alterados em amostras de papel filtro devem ser confirmados com a dosagem em soro, para valores exatos.
**2-** A utilização de amostras de sangue seco em papel filtro que foram coletadas, secas e armazenadas de forma insatisfatória podem gerar resultados inadequados.
**3-** É recomendado que sejam seguidas as diretrizes estabelecidas para triagem neonatal e diagnóstico de hipotireoidismo congênito de cada região.
**4-** As concentrações de TSH podem apresentar variação entre diferentes fabricantes de imunoensaios, devido à diversidade de antígenos e anticorpos disponíveis utilizados na fabricação de cada teste.
**5-** A interpretação de um teste diagnóstico não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis antes do diagnóstico definitivo.

**INTERFERENTES**
Nenhuma interferência foi observada por Triglicérides 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL, anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL e Fator Reumatoide 1080 UI/mL.

**REATIVIDADE CRUZADA**
Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 40 amostras de sangue seco em papel filtro com baixas concentrações de TSH, mas com altas concentrações conhecidas de outros analitos. Dentre elas, 10 amostras com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) até 50.000 mUI/mL, 10 amostras com Hormônio Folículo Estimulante (FSH) até 1.000 mUI/mL, 10 amostras com Hormônio Luteinizante (LH) até 1.000 mUI/mL e 10 amostras com Prolactina até 1.000 ng/mL. Não foram observados resultados falsos positivos para os analitos acima, até a concentração máxima testada. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividades cruzadas com outros analitos ou com concentrações maiores. O diagnóstico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

**CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE**
O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

**DESEMPENHO DO PRODUTO**
**PRECISÃO**
**Repetibilidade**
A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

| Repetibilidade | AMOSTRA | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| Média | 2,610 | 0,471 | 0,083 |
| Desvio Padrão | 0,229 | 0,049 | 0,010 |
| Coeficiente de Variação (%) | 8,77 | 10,42 | 12,49 |

**Reprodutibilidade**
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbancia:

| Reprodutibilidade | AMOSTRA | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| Média | 2,603 | 0,471 | 0,094 |
| Desvio Padrão | 0,244 | 0,046 | 0,014 |
| Coeficiente de Variação (%) | 9,36 | 9,82 | 14,85 |

**SENSIBILIDADE ANALÍTICA**
A sensibilidade analítica do kit BIOLISA TSH DBS é 0,45 µUI/mL.

**LINEARIDADE**
A reação é linear até a concentração do ponto mais alto da curva de calibração.

**EFEITO PRÓ-ZONA DE ALTA DOSE**
Não foi observado efeito pró-zona de alta dose em até 1.000 µUI/mL de TSH.

**SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO**
O Hormônio Estimulante da Tireóide (TSH) é um hormônio glicoproteico secretado pela hipófise anterior. O TSH é constituído de duas subunidades, α e β. A subunidade α do TSH é semelhante à subunidade α encontrada em outros hormônios glicoproteicos como LH, FSH e hCG. No entanto, a subunidade β é específica e difere de hormônio para hormônio. Os hormônios da tireoide (T4 e T3) são secretados e produzidos pela glândula tireoide, sob a regulação do TSH. Além disso, o TSH controla o transporte de iodeto e estimula a secreção na corrente sanguínea de tireoglobulina, principal componente proteico da glândula tireoide. Portanto, o TSH desempenha um papel importante no bom funcionamento e desenvolvimento da glândula tireóide. As concentrações dos hormônios tireoidianos controlam a secreção de TSH, por meio de um feedback negativo. Por exemplo, no hipotireoidismo primário, o nível sérico de T4 e T3 são baixos enquanto o nível de TSH é alto. De igual modo, no hipertireoidismo primário, o nível sérico de T4 e T3 são altos enquanto o nível de TSH é baixo. Quando a causa é secundária, ou seja, se trata de uma disfunção hipofisária, o T4, o T3 e TSH estão igualmente altos ou baixos. Assim, para diagnóstico e acompanhamento de disfunções tireoidianas, recomenda-se testar tanto o hormônio glicoproteico quanto hormônios T4/T3. Ainda, determinações de TSH também são úteis para monitorar pacientes que recebem terapia de reposição de tiroxina. O hipotireoidismo é uma desordem caracterizada pela produção diminuída dos hormônios tireoidiamos T3 e T4. Em adultos, a principal causa é a Doença de Hashimoto, consequência de uma resposta autoimune contra a tireoide. Depressão, braquicardia, constipação, menstruação irregular, falhas de memória, cansaço excessivo, dores musculares, pele seca, queda de cabelo, ganho de peso e aumento de colesterol estão entre os sintomas do hipotireoidismo. O hipotireoidismo congênito (HC) é uma condição onde o neonato produz baixos níveis dos hormônios tireoidiamos devido ao desenvolvimento anormal da glândula tireoide. Estima-se que 1 a cada 2.000 nascimentos possuem HC. Apesar de não haver sintomatologia ao nascer na grande maioria dos casos, o hipotireoidismo congênito pode levar a graves problemas de desenvolvimento físico e mental das crianças acometidas se não devidamente diagnosticado e tratado com reposição hormonal. Dessa forma, a investigação do HC pelo teste do pezinho é amplamente recomendada para previnir possíveis consequências da doença. A quantificação de TSH em amostras de sangue seco em papel filtro é efetiva para a triagem de indivíduos com patologias onde se encontram níveis elevados de TSH, além do acompanhamento do tratamento dessas condições.

**REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA**

1- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
2- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
3- Dayan, C. M. Interpretation of thyroid function tests. Lancet, 2001.
4- Parkers, I. L.; Schenker J. G. Shufaro, Y. Thyroid disorders during Pregnancy. Gyneccological Endocrinology, v. 28, n. 12, 2012.
5- Rawlins, M.; Roberts, W. L. Performance Characteristics of Six Third-Generation Assays for Thyroid-Stimulating Hormone. Clinical Chemistry, v. 50, v. 12, 2004.
6- Foley Jr, T. P. et al. Maternal Screening for Hypothyroidism and Thyroiditis Using Filter Paper Specimens. Journal of Women's Health, v. 22, n. 11, 2013.
7- Hofman, L. F. et al. Assays for thyroid-stimulating hormone using dried blood spotted filter paper specimens to screen for hypothyroidism in older children and adults. J Med Screen, v. 10, 2003.
8- American Academy of Pediatrics.Congenital Hypothyroidism: Screening and Management. Pediatrics, v. 151, n. 1, 2023.
9- Moat, S. J. et al. Use of Dried Blood Spot Specimens to Monitor Patients with Inherited Metabolic Disorders. Neonatal Screening, v. 6, 2020.
10- Ministério da Saúde. Manual Técnico de Triagem Neonatal Biológica. 2016.
11- Ministério da Saúde. Portaria nº 5 – Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Hipotireoidismo Congênito. 16 de abril de 2021.
12- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.


**GARANTIA DE QUALIDADE**
Antes de serem liberados para consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.


**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail:bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

**ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR**
Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br


Número de Registro do kit BIOLISA TSH DBS na ANVISA: 10269360449


**Revisão**: Março/2024


## SIMBOLOGIA UNIVERSAL

Bioclin

# BIOLISA TSH DBS

REF **K278**

## INSTRUCCIONES DE USO

**FINALIDAD**

Prueba para la determinación cuantitativa de Hormona Estimulante de la Tiroides o Tirotropina (TSH) en muestras biológicas de sangre seca recolectadas en papel de filtro (DBS), para la detección del hipotiroidismo en adultos y neonatos, mediante una prueba de inmunoensayo enzimático. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

**PRINCIPIO DE ACCIÓN**

**Metodología:** Inmunoensayo enzimático o inmunoensayo enzimático.

El kit BIOLISA TSH DBS es un inmunoensayo enzimático en fase sólida, basado en el principio de "sandwich" para la detección cuantitativa de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) en muestras de sangre humana seca recolectadas en papel de filtro (DBS). Para lograrlo, la Placa Sensibilizada se recubre con anticuerpos específicos contra un sitio antigénico presente exclusivamente en las moléculas de TSH. En primer lugar, la muestra de sangre seca se añade a la microplaca, se eluye con el tampón de elución y se incuba con agitación. Las moléculas de TSH presentes en la muestra se unen a los anticuerpos anti-TSH adheridos a la microplaca que, tras la incubación, se lava para eliminar los materiales no unidos. El Conjugado, formado por anticuerpos anti-TSH específicos conjugados con peroxidasa, se añade y se incuba, uniéndose a las moléculas de TSH inmovilizadas por los anticuerpos anti-TSH en la microplaca. Se realiza un nuevo lavado para eliminar los materiales no adheridos. Luego, se agrega el Sustrato y se incuba, produciendo un color azul que indica proporcionalmente la cantidad de TSH detectada en la muestra. Se agrega la solución de parada para detener la reacción, lo que produce un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

**REACTIVOS**

**1 - Estándares de Referencia (A – F) -** Conservar entre 2 y 8 ºC. Contiene: Un (1) papel de filtro impregnado con seis (6) unidades de Estándares de Referencia (A - F), preparados en sangre, que contienen Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH) en diferentes concentraciones. Las concentraciones varían con cada lote (de 0 a 200 µUI/mL), consulte la etiqueta. **Potencialmente infeccioso.**

**2- Conjugado -** Conservar entre 2 y 8 ºC. Contiene: Solución tampón que contiene anticuerpos anti-TSH específicos unidos a peroxidasa, estabilizadores, conservantes, tensioactivo y colorante.

**3- Placa Sensibilizada -** Conservar entre 2 y 8 ºC. Contiene: Placa sensibilizada con anticuerpos específicos anti-TSH.

**4- Lavado Concentrado -** Conservar entre 2 y 8 ºC. Contiene: Solución tampón (fosfato < 0,5 mol/L, cloruro de potasio < 100 mmol/L, cloruro de sodio < 5 mol/L), tensioactivo y conservante.

**5- Sustrato -** Conservar entre 2 y 8 ºC. Contiene: Solución tampón que contiene peróxido de urea, tetrametilbencidina (TMB) y conservante.

**6- Solución de parada -** Conservar entre 2 y 8 ºC. Contiene: Ácido Clorhídrico 1M.

**7- Tampón de Elución -** Conservar entre 2 y 8 ºC. Contiene: Solución tampón, tensioactivo, estabilizador y conservante.

**8- Controles (1-2) -** Conservar entre 2 y 8 ºC. Contiene: Un (1) papel de filtro impregnado con dos (2) unidades de Controles, preparados en sangre, que contienen Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH) en diferentes concentraciones. Las concentraciones varían con cada lote, consulte la etiqueta. **Potencialmente infeccioso.**

**PRESENTACIÓN**

| REACTIVOS | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| | **96 cavidades** | **192 cavidades** | **480 cavidades** | **960 cavidades** |
| **1-Estándares Referência (A-F)** | 1 unidad | 2 unidades | 3 unidades | 5 unidades |
| **2- Conjugado** | 1 Vial x 12 mL | 1 Vial x 24 mL | 1 Vial x 60 mL | 1 Vial x 100 mL |
| **3- Placa Sensibilizada** | 1 unidad | 2 unidades | 5 unidades | 10 unidades |
| **4- Lavado Concentrado** | 1 Vial x 50 mL | 1 Vial x 100 mL | 1 Vial x 250 mL | 1 Vial x 500 mL |
| **5- Sustrato** | 1 Vial x 12 mL | 1 Vial x 24 mL | 1 Vial x 60 mL | 1 Vial x 100 mL |
| **6- Solución de Parada** | 1 Vial x 12 mL | 1 Vial x 24 mL | 1 Vial x 60 mL | 1 Vial x 100 mL |
| **7- Tampón de elución** | 1 Vial x 20 mL | 1 Vial x 40 mL | 1 Vial x 100 mL | 1 Vial x 200 mL |
| **8- Controles (1-2)** | 1 unidad | 2 unidades | 3 Unidades | 5 unidades |

**EQUIPOS OPERATIVOS Y CONSUMOS**

**- Reactivos descritos en la tabla anterior**

**Materiales necesarios no contenidos en el kit:**

**1-** Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 100 a 300 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.

**2-** Repipetador para pipeteo repetitivo de volúmenes de 100 a 300 µL con coeficiente de variación inferior al 1,5% o pipeta multicanal (opcional).

**3-** Lavadora de microplacas para técnica de papel filtro.

**4-** Lector de ELISA con capacidad de absorbancia a 450 y 620 nm de longitud de onda.

**5-** Incubadora a temperatura ambiente con capacidad de agitación a 650 rpm.

**6-** Trituradora de papel (diámetro 3 ± 0,2 mm).

**7-** Papel absorbente para secar las microcavidades.

**8-** Cronómetro o reloj.

**9-** Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de la dilución.

**10-** Agua destilada o desionizada.

**11-** Herramientas de Control de Calidad.

**CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE**

La temperatura de almacenamiento debe ser de 2 a 8 ºC. El transporte a temperaturas de hasta 30 ºC no debe exceder los 5 días. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

**CUIDADOS ESPECIALES**

**1- Únicamente para uso diagnóstico *in vitro*.**

**2-** Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados precisos.

**3-** El sobre que contiene la microplaca sólo debe abrirse después de alcanzar la temperatura ambiente. Devuelva las tiras de microcavidades no utilizadas al sobre, ciérrelo y guárdelo entre 2 y 8 ºC.

**4-** El agua utilizada para limpiar el material debe ser reciente y libre de contaminantes.

**5-** Las columnas desionizantes saturadas liberan agua alcalina, diversos iones y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar significativamente los resultados.

**6-** La solución de parada contiene ácido clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manéjelo con el debido cuidado.

**7-** Todas las materias primas del producto se prueban y no son reactivas para HBsAg, Anti-HIV 1&2 y Anti HCV. Sin embargo, estas pruebas no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de cualquier producto que contenga una muestra biológica es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por lo tanto, es necesario tomar las precauciones de bioseguridad adecuadas al manipular estos productos.

**8-** Pipetear siempre los reactivos en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.

**9-** Como medida de protección, la placa debe estar cubierta durante la reacción.

**10-** Se debe asegurar que el fondo de la cavidad esté limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante la prueba.

**11-** No exponer los reactivos, especialmente el Sustrato, a luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante las etapas de almacenamiento o incubación.

**12-** Recomendamos aplicar normas de protección ambiental locales, estatales y federales para que los reactivos y material biológico sean dispuestos de acuerdo con la legislación vigente.

**13-** Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consulte la HDS (Hoja de Dados de Seguridad) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o mediante solicitud através del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

**14-** No utilice el producto si el embalaje está dañado.

**15-** Es imprescindible que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a mantenimiento periódico.

**MUESTRAS**

**Sangre seca recogida en papel de filtro (DBS) – EDTA o Punción**

El papel de filtro utilizado debe ser específico para la recolección de muestras de sangre seca, como los modelos S&S 903 y Ahlstrom 226. El laboratorio debe certificar la calidad de las muestras antes de su uso.

Las muestras de sangre secadas en papel de filtro se pueden almacenar hasta por 35 días a temperatura ambiente, siempre que estén protegidas de la luz solar directa y en condiciones de baja humedad. Para almacenamiento de hasta 2 años, las muestras deben permanecer refrigeradas, entre 2 y 8 °C. El almacenamiento durante más de 2 años debe realizarse a una temperatura de -20 °C.[2]

**DESCRIPCIÓN DEL PROCESO**

**Estabilidad después de la apertura**

Los resultados de la prueba de estabilidad demuestran que el kit BIOLISA TSH DBS es estable después de abrirlo por hasta 30 días. Esta estabilidad puede variar según la prueba y las condiciones ambientales. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando los controles internos del kit y los criterios de validación de la técnica.

**PREPARACIÓN DE REACTIVOS DE TRABAJO**

**Solución de Lavado**

Diluir el contenido de la botella N° 4 (Lavado Concentrado) en proporción 1:20 en agua destilada o desionizada. Por lo tanto, diluya 50 mL de la solución de Lavado Concentrado en agua destilada o desionizada, para un volumen final de 1000 mL. Después de la preparación, la solución se puede almacenar entre 2 y 30 ºC hasta por 30 días. Si se produce cristalización, calentar a 37 °C hasta que se disuelva.

**Todos los demás reactivos están listos para usar.**

**TÉCNICA**

**Para uso en equipos automáticos consultar con SAC (Servicio de Asesoramiento al Cliente).**

Antes de comenzar el ensayo, coloque todos los reactivos, muestras, estándares de referencia y controles para que se estabilicen a temperatura ambiente (15 – 30 ºC) durante al menos 40 minutos.

**1-** Separar las cavidades a utilizar considerando: Estándares de Referencia (de A a F), Controles (1 y 2) y muestras de sangre seca en papel de filtro. Se recomienda realizar la prueba por duplicado. Devuelva las tiras de microplacas no utilizadas al embalaje sellado original.

**2-** Separar la primera cavidad para el Blanco (opcional).

**3-** Agregar un disco de 3 mm de cada uno de los Estándares de Referencia, Controles y muestras de sangre seca, previamente cortados, en las cavidades determinadas.

**4-** Pipetee 100 µL de tampón de elución en todos los pocillos, incluido el pocillo Blanco. Cubra las cavidades con sellador de placas.

**5-** Incubar durante 120 minutos a temperatura ambiente (25 ºC aproximadamente) y bajo agitación constante a 650 rpm, que puede variar entre 550 y 750 rpm.

**Nota:** La agitación dentro de la velocidad indicada es un paso crucial para la elución eficiente de muestras de sangre seca y es necesaria para la correcta realización del ensayo.

**6-** Retirar el sellador de las cavidades.

**7-** Después de la incubación, desechar el contenido de las cavidades por aspiración en una lavadora adecuada para la técnica del papel de filtro. Utilice aproximadamente 300 µL de Solución de Lavado, previamente preparada, y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado, agitando durante tres (3) segundos al final de cada ciclo. Para asegurar que el plato se seque, al final del lavado, golpee el plato durante unos segundos sobre papel absorbente.

**Nota:** Un lavado/secado deficiente puede provocar resultados inadecuados.

**8-** Pipetee 100 µL de Conjugado en todos los pocillos, incluido el pocillo Blanco.

**9-** Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubra las cavidades con sellador de placas.

**10-** Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 25 ºC).

**11-** Retirar el sellador de placas de las cavidades.

**12-** Repetir el punto 7.

**13-** Pipetee 100 µL de Sustrato en todos los pocillos, incluido el pocillo Blanco.

**14-** Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubra las cavidades con sellador de placas.

**15-** Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 25 ºC), protegido de la luz.

**16-** Retirar el sellador de las cavidades.

**17-** Pipetee 100 µL de Solución de Parada en todos los pocillos, incluido el pocillo Blanco.

**18-** Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos.

**19-** Leer usando doble filtro: 450 nm / 620 nm en hasta 10 minutos (máximo).

**VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA**

Compruebe si los resultados obtenidos en la lectura del Blanco y de los Estándares de Referencia son compatibles con los valores que se presentan a continuación:

| ITEM | ABSORBÂNCIAS |
|---|---|
| **Blanco** | < 0,100 |
| **Estándar de referencia A** | < 0,100 |
| **Estándar de referencia B** | > A y < C |
| **Estándar de referencia C** | > B y < D |
| **Estándar de referencia D** | > C y < E |
| **Estándar de referencia E** | > D y < F |
| **Estándar de referencia F** | > E |

Después de validar los Estándares de Referencia, se debe realizar la Curva de Calibración y el cálculo de la concentración de Control, como se describe en el ítem CÁLCULOS. Verificar que los resultados obtenidos estén dentro del rango referenciado en la etiqueta de Controles.

Si los valores de absorbancia de los Estándares de Referencia y/o la concentración de los Controles están fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

**CÁLCULOS**

Se utiliza una curva de calibración para determinar la concentración de TSH en muestras desconocidas.

**Preparación de la Curva de Calibración**

Si se realizaron por duplicado, calcular las absorbancias promedio obtenidas en el lector de microplacas para cada uno de los Estándares de Referencia (A-F), como en el ejemplo:

| Estándar Referencia | Concentración (Ver etiqueta) | Absorbancia | Absorbancia Media |
|---|---|---|---|
| A | 0,0 | 0,039 | 0,042 |
| | | 0,045 | |
| B | 10,0 | 0,305 | 0,299 |
| | | 0,293 | |
| C | 20,0 | 0,507 | 0,503 |
| | | 0,498 | |
| D | 50,0 | 0,912 | 0,909 |
| | | 0,905 | |
| E | 100,0 | 1,415 | 1,407 |
| | | 1,399 | |
| F | 200,0 | 2,152 | 2,075 |
| | | 1,997 | |

Trazar las absorbancias promedio de cada estándar de referencia (A-F) versus la concentración correspondiente en µUI/mL en papel cuadriculado o usando programas de computadora. Trazar la curva punto por punto.

**Cálculo de la concentración de TSH de las muestras**
Calcular la concentración de cada muestra analizada a partir de la Curva de Calibración realizada en papel cuadriculado, interpolando el valor de absorbancia obtenido al leer la muestra con el valor de concentración correspondiente (µUI/mL). El cálculo de la concentración de las muestras analizadas también se puede realizar mediante programas informáticos adecuados, mediante regresión lineal.

El rango de medición del kit está entre 0,45 y 200,00 µUI/mL (sensibilidad analítica y punto máximo de la curva, respectivamente). Los resultados por debajo del límite inferior de detección deben expresarse como <0,45 µUI/ml. Los resultados por encima del límite superior de detección deben expresarse como >200,00 µUI/mL.

**Nota:** Los datos presentados son solo para ilustración y no pueden usarse para reemplazar la curva de calibración, que debe construirse en el laboratorio. Los estándares de referencia y controles proporcionados en el kit siempre deben probarse con cada nuevo ensayo.

**VALORES DE REFERENCIA**

| | | |
|---|---|---|
| Adultos | Normal | < 4,0 µUI/mL |
| | Indeterminado / Límite | 4,0 – 5,5 µUI/mL |
| | Cambiado | > 5,5 µUI/mL |

| | | |
|---|---|---|
| Recién nacidos | Normal | < 8,0 µUI/mL |
| | Indeterminado / Límite | 8,0 – 12,0 µUI/mL |
| | Cambiado | > 12,0 µUI/mL |

Estos valores deben usarse como guía, y cada laboratorio debe crear su rango de valores de referencia de acuerdo a la población atendida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable y no son el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

**LIMITACIONES DEL PROCESO**
**1-** El producto BIOLISA TSH DBS está destinado a la detección del hipotiroidismo en adultos y recién nacidos. Los pacientes con valores límite y alterados en muestras de papel de filtro deben ser confirmados con dosificación sérica para valores exactos.
**2-** El uso de muestras de sangre seca sobre papel de filtro que fueron recolectadas, secadas y almacenadas de manera insatisfactoria puede generar resultados inadecuados.
**3-** Se recomienda seguir las pautas establecidas para el cribado y diagnóstico neonatal de hipotiroidismo congénito en cada región.
**4-** Las concentraciones de TSH pueden variar entre diferentes fabricantes de inmunoensayos, debido a la diversidad de antígenos y anticuerpos disponibles utilizados en la fabricación de cada prueba.
**5-** La interpretación de una prueba diagnóstica no debe establecerse en base a una única prueba. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible antes del diagnóstico definitivo.

**INTERFERENCIAS**
No se observaron interferencias con Triglicéridos 1500 mg/dL, Ácido acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL, anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL y Factor Reumatoide 1080 UI/mL.

**REACTIVIDAD CRUZADA**
Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 40 muestras de sangre seca en papel de filtro con bajas concentraciones de TSH, pero con altas concentraciones conocidas de otros analitos. Entre ellas, 10 muestras con Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) hasta 50.000 mUI/mL, 10 muestras con Hormona Folículo Estimulante (FSH) hasta 1.000 mUI/mL, 10 muestras con Hormona Luteinizante (LH) hasta 1.000 mUI/mL y 10 muestras con Prolactina hasta 1.000 ng/mL. No se observaron resultados falsos positivos para los analitos anteriores, hasta la concentración máxima analizada. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar completamente la posibilidad de reactividad cruzada con otros analitos o con concentraciones más altas. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

**CONTROL DE CALIDAD INTERNO**
El Laboratorio Clínico debe contar con un programa de control de calidad interno, donde estén claramente establecidos los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a variaciones. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, la cual debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para ello, se recomienda utilizar controles, que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

**RENDIMIENTO DEL PRODUCTO**
**PRECISIÓN**
**Repetibilidad**
La repetibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia:

| Repetibilidad | MUESTRA | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| Promedio | 2,610 | 0,471 | 0,083 |
| Desvío Patrón | 0,229 | 0,049 | 0,010 |
| Coeficiente de Variación (%) | 8,77 | 10,42 | 12,49 |

**Reproducibilidad**
La reproducibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia:

| Reproducibilidad | MUESTRA | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| Promedio | 2,603 | 0,471 | 0,094 |
| Desvío Patrón | 0,244 | 0,046 | 0,014 |
| Coeficiente de Variación (%) | 9,36 | 9,82 | 14,85 |

**SENSIBILIDAD ANALÍTICA**
La sensibilidad analítica del kit BIOLISA TSH DBS es de 0,45 µUI/mL.

**LINEALIDAD**
La reacción es lineal hasta la concentración en el punto más alto de la curva de calibración.

**EFECTO PRO-ZONA DE DOSIS ALTA**
No se observó ningún efecto de prozona en dosis altas hasta 1000 µUI/ml de TSH.

**SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO**
La hormona estimulante de la tiroides (TSH) es una hormona glicoproteica secretada por la glándula pituitaria anterior. La TSH se compone de dos subunidades, α y β. La subunidad α de la TSH es similar a la subunidad α que se encuentra en otras hormonas glicoproteicas como la LH, la FSH y la hCG. Sin embargo, la subunidad β es específica y difiere de una hormona a otra. Las hormonas tiroideas (T4 y T3) son secretadas y producidas por la glándula tiroides, bajo la regulación de la TSH. Además, la TSH controla el transporte de yoduro y estimula la secreción de tiroglobulina, el principal componente proteico de la glándula tiroides, en el torrente sanguíneo. Por tanto, la TSH juega un papel importante en el buen funcionamiento y desarrollo de la glándula tiroides. Las concentraciones de hormona tiroidea controlan la secreción de TSH mediante retroalimentación negativa. Por ejemplo, en el hipotiroidismo primario, los niveles séricos de T4 y T3 son bajos mientras que el nivel de TSH es alto. Asimismo, en el hipertiroidismo primario, el nivel sérico de T4 y T3 es alto mientras que el nivel de TSH es bajo. Cuando la causa es secundaria, es decir, se trata de una disfunción hipofisaria, la T4, la T3 y la TSH están igualmente altas o bajas. Por lo tanto, para el diagnóstico y seguimiento de las disfunciones tiroideas, se recomienda realizar pruebas tanto de la hormona glicoproteica como de las hormonas T4/T3. Además, las determinaciones de TSH también son útiles para el seguimiento de los pacientes que reciben terapia de reemplazo con tiroxina. El hipotiroidismo es un trastorno caracterizado por una disminución de la producción de las hormonas tiroideas T3 y T4. En los adultos, la causa principal es la Enfermedad de Hashimoto, consecuencia de una respuesta autoinmune contra la tiroides. Entre los síntomas del hipotiroidismo se encuentran depresión, braquicardia, estreñimiento, menstruación irregular, fallos de memoria, cansancio excesivo, dolores musculares, piel seca, caída del cabello, aumento de peso y aumento del colesterol. El hipotiroidismo congénito (CH) es una afección en la que el recién nacido produce niveles bajos de hormonas tiroideas debido al desarrollo anormal de la glándula tiroides. Se estima que 1 de cada 2.000 nacimientos tiene CH. Aunque en la gran mayoría de los casos no hay síntomas al nacer, el hipotiroidismo congénito puede provocar graves problemas en el desarrollo físico y mental de los niños afectados si no se diagnostica y trata adecuadamente con reemplazo hormonal. Por lo tanto, se recomienda ampliamente investigar la CH mediante la prueba del talón para prevenir posibles consecuencias de la enfermedad. La cuantificación de TSH en muestras de sangre seca sobre papel de filtro es eficaz para el cribado de individuos con patologías en las que se encuentran niveles elevados de TSH, además del seguimiento del tratamiento de estas afecciones.

**REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA**

1- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
2- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
3- Dayan, C. M. Interpretation of thyroid function tests. Lancet, 2001.
4- Parkers, I. L.; Schenker J. G. Shufaro, Y. Thyroid disorders during Pregnancy. Gyneccological Endocrinology, v. 28, n. 12, 2012.
5- Rawlins, M.; Roberts, W. L. Performance Characteristics of Six Third-Generation Assays for Thyroid-Stimulating Hormone. Clinical Chemistry, v. 50, v. 12, 2004.
6- Foley Jr, T. P. et al. Maternal Screening for Hypothyroidism and Thyroiditis Using Filter Paper Specimens. Journal of Women's Health, v. 22, n. 11, 2013.
7- Hofman, L. F. et al. Assays for thyroid-stimulating hormone using dried blood spotted filter paper specimens to screen for hypothyroidism in older children and adults. J Med Screen, v. 10, 2003.
8- American Academy of Pediatrics.Congenital Hypothyroidism: Screening and Management. Pediatrics, v. 151, n. 1, 2023.
9- Moat, S. J. et al. Use of Dried Blood Spot Specimens to Monitor Patients with Inherited Metabolic Disorders. Neonatal Screening, v. 6, 2020.
10- Ministério da Saúde. Manual Técnico de Triagem Neonatal Biológica. 2016.
11- Ministério da Saúde. Portaria nº 5 – Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Hipotireoidismo Congênito. 16 de abril de 2021.
12- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.


**GARANTÍA DE CALIDAD**
Antes de ser despachados al consumo, todos los reactivos de **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está garantizada hasta la fecha de vencimiento mencionada en el empaque de presentación, siempre y cuando sean almacenados y transportados en condiciones adecuadas.


**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail:bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileña

**ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR**
Servicio de Asesoría al Cliente
Tel. : 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br



Número de Registro del kit BIOLISA TSH DBS en la ANVISA: 10269360449

**Revisión:** Marzo/2024


## SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

# BIOLISA TSH DBS

REF K278

## INSTRUCTIONS FOR USE

### FUNCTION

Test for quantitative determination of Thyroid Stimulating Hormone or Thyrotropin (TSH) in biological samples of dried blood collected on filter paper (DBS), for the screening of hypothyroidism in adults and neonates, using an enzyme immunoassay test. For *in vitro* diagnostic use only.

### PRINCIPLE OF ACTION

**Methodology:** Enzyme immunoassay or enzyme immunoassay

The BIOLISA TSH DBS kit is a solid phase enzyme immunoassay, based on the "sandwich" principle for the quantitative detection of Thyroid Stimulating Hormone (TSH) in human dried blood samples collected on filter paper (DBS). To achieve this, the Sensitized Plate is coated with specific antibodies against an antigenic site present exclusively on TSH molecules. Firstly, the dried blood sample is added to the microplate, eluted by the Elution Buffer and incubated under agitation. The TSH molecules present in the sample bind to the anti-TSH antibodies adhered to the microplate which, after incubation, is washed to remove unbound materials. The Conjugate, made up of specific anti-TSH antibodies conjugated to peroxidase, is added and incubated, binding to the TSH molecules immobilized by the anti-TSH antibodies on the microplate. A new wash is performed to remove unbound materials. Then, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that proportionally indicates the amount of TSH detected in the sample. The Stop Solution is added to stop the reaction, resulting in a change in color from blue to yellow, measured in a microplate reader.

### REAGENTS

**1 - Reference Standards (A – F) -** Store between 2 and 8 ºC. Contains: One (1) filter paper impregnated with six (6) units of Reference Standards (A - F), prepared in blood, containing Thyroid Stimulating Hormone (TSH) in different concentrations. Concentrations vary with each batch (from 0 to 200 µUI/mL), see label. **Potentially infectious.**

**2- Conjugate -** Store between 2 and 8 ºC. Contains: Buffer solution containing specific anti-TSH antibodies linked to peroxidase, stabilizers, preservatives, surfactant and dye.

**3- Sensitized Plate -** Store between 2 and 8 ºC. Contains: Plate sensitized with specific anti-TSH antibodies.

**4- Concentrated Washing -** Store between 2 and 8 ºC. Contains: Buffer solution (phosphate < 0.5 mol/L, potassium chloride < 100 mmol/L, sodium chloride < 5 mol/L), surfactant and preservative.

**5- Substrate -** Store between 2 and 8 ºC. Contains: Buffer solution containing urea peroxide, tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.

**6- Stop Solution -** Store between 2 and 8 ºC. Contains: 1M Hydrochloric Acid.

**7- Elution Buffer -** Store between 2 and 8 ºC. Contains: Buffer solution, surfactant, stabilizer and preservative.

**8- Controls (1-2) -** Store between 2 and 8 ºC. Contains: One (1) filter paper impregnated with two (2) units of Controls, prepared in blood, containing Thyroid Stimulating Hormone (TSH) in different concentrations. Concentrations vary with each batch, see label. **Potentially infectious.**

### PRESENTATIONS

| REAGENTS | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| | 96 cavities | 192 cavities | 480 cavities | 960 cavities |
| 1- Reference Standards (A-F) | 1 unit | 2 units | 3 units | 5 units |
| 2- Conjugate | 1 Vial x 12 mL | 1 Vial x 24 mL | 1 Vial x 60 mL | 1 Vial x 100 mL |
| 3- Sensitized Plate | 1 unit | 2 units | 5 units | 10 units |
| 4- Concentrated washing | 1 Vial x 50 mL | 1 Vial x 100 mL | 1 Vial x 250 mL | 1 Vial x 500 mL |
| 5- Substrate | 1 Vial x 12 mL | 1 Vial x 24 mL | 1 Vial x 60 mL | 1 Vial x 100 mL |
| 6- Stop Solution | 1 Vial x 12 mL | 1 Vial x 24 mL | 1 Vial x 60 mL | 1 Vial x 100 mL |
| 7- Elution Buffer | 1 Vial x 20 mL | 1 Vial x 40 mL | 1 Vial x 100 mL | 1 Vial x 200 mL |
| 8- Controls (1-2) | 1 unit | 2 units | 3 units | 5 units |

### EQUIPMENT AND OPERATING SUPPLIES

- Reagents described in the previous table

**Required materials not contained in the kit:**

**1-** Pipettes capable of dispensing volumes of 100 to 300 µL with a coefficient of variation of less than 1.5%.
**2-** Repipettor for repetitive pipetting of volumes from 100 to 300 µL with a coefficient of variation less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
**3-** Microplate washer for filter paper technique.
**4-** ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 620 nm wavelength.
**5-** Room temperature incubator with shaking capacity at 650 rpm.
**6-** Paper shredder (diameter 3 ± 0.2 mm).
**7-** Absorbent paper to dry the microcavities.
**8-** Stopwatch or clock.
**9-** Bottle to store the Washing Solution after dilution.
**10-** Distilled or deionized water.
**11-** Quality Control Tools.

### STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8 ºC. Transport at temperatures up to 30 ºC should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

### SPECIAL CARES

**1- For *in vitro* diagnostic use only.**
**2-** Strictly follow the proposed methodology to obtain accurate results.
**3-** The sachet containing the microplate must only be opened after reaching room temperature. Return the unused microcavity strips to the sachet, seal and store at 2 to 8 ºC.
**4-** The water used to clean the material must be recent and free from contaminants.
**5-** Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
**6-** The Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.
**7-** All raw materials for the product are tested and are non-reactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti HCV. However, these tests do not offer complete assurance of the absence of infectious agents. The handling of any product that contains a biological sample is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, it is necessary to take appropriate biosafety precautions when handling these products.
**8-** Always pipette the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microcavities.
**9-** As a protective measure, the plate must be covered during the reaction.
**10-** It must be ensured that the bottom of the cavity is clean and dry and that there are no bubbles on the surface of the liquid before reading the plate. Do not allow the wells to dry out during the test.
**11-** Do not expose the reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite vapors during storage or incubation stages.
**12-** We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that reagents and biological material are disposed of in accordance with current legislation.
**13-** To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or through a request through SAC (Customer Advisory Service) from Quibasa.
**14-** Do not use the product if the packaging is damaged.
**15-** It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

### SAMPLES

**Dried blood collected on filter paper (DBS) – EDTA or Puncture**

The filter paper used must be specific for collecting dried blood samples, such as the S&S 903 and Ahlstrom 226 models. The laboratory must certify the quality of the samples before use.

Blood samples dried on filter paper can be stored for up to 35 days at room temperature, as long as they are protected from direct sunlight and in low humidity. For storage of up to 2 years, samples must remain refrigerated, between 2 and 8 °C. Storage for more than 2 years must be carried out at a temperature of -20 °C.[2]

### PROCESS DESCRIPTION

**Stability After Opening**

The stability test results prove that the BIOLISA TSH DBS kit is stable after opening for up to 30 days. This stability may vary depending on test and environmental conditions. Therefore, it is suggested to monitor the product's performance using the kit's internal controls and the technique validation criteria.

### PREPARATION OF WORKING REAGENTS

**Washing Solution**

Dilute the contents of bottle No. 4 (Concentrated Washing) in a 1:20 ratio in distilled or deionized water. Therefore, dilute 50 mL of the Concentrated Washing solution in distilled or deionized water, for a final volume of 1000 mL. After preparation, the solution can be stored between 2 and 30 ºC for up to 30 days. If crystallization occurs, heat to 37 °C until dissolved.

**All other reagents are ready to use.**

### TECHNIQUE

**For use in automatic equipment, consult SAC (Customer Advisory Service).**

Before starting the assay, place all reagents, samples, Reference Standards and Controls to stabilize at room temperature (15 – 30 ºC) for at least 40 minutes.

**1-** Separate the cavities to be used considering: Reference Standards (from A to F), Controls (1 and 2) and dried blood samples on filter paper. It is recommended to test in duplicate. Return unused microplate strips to the original sealed packaging.
**2-** Separate the first cavity for the Blank (optional).
**3-** Add a 3 mm disc of each of the Reference Standards, Controls and dried blood samples, previously cut, into the determined cavities.
**4-** Pipette 100 µL of Elution Buffer into all wells, including the Blank well. Cover the cavities with plate sealer.
**5-** Incubate for 120 minutes at room temperature (approximately 25 ºC) and under constant agitation at 650 rpm, which can vary between 550 and 750 rpm.
**Note:** Agitation within the indicated speed is a crucial step for the efficient elution of dried blood samples and necessary for the correct performance of the assay.
**6-** Remove the sealer from the cavities.
**7-** After incubation, discard the contents of the cavities by aspiration in a washing machine suitable for filter paper technique. Use approximately 300 µL of Washing Solution, previously prepared, and perform a total of five (5) washing cycles, shaking for three (3) seconds at the end of each cycle. To ensure the plate dries, at the end of washing, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.
**Note:** Poor washing/drying may cause inadequate results.
**8-** Pipette 100 µL of Conjugate into all wells, including the Blank well.
**9-** Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the cavities with plate sealer.
**10-** Incubate for 60 minutes at room temperature (approximately 25 ºC).
**11-** Remove the plate sealer from the cavities.
**12-** Repeat item 7.
**13-** Pipette 100 µL of Substrate into all wells, including the Blank well.
**14-** Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the cavities with plate sealer.
**15-** Incubate for 30 minutes at room temperature (approximately 25 ºC), protected from light.
**16-** Remove the sealer from the cavities.
**17-** Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells, including the Blank well.
**18-** Gently homogenize for ± 10 seconds.
**19-** Read using a double filter: 450 nm / 620 nm in up to 10 minutes (maximum).

### TECHNIQUE CHECK

Check whether the results obtained for reading the Blank and Reference Standards are compatible with the values presented below:

| ITEM | ABSORBANCES |
|---|---|
| Blank | < 0.100 |
| Reference Standard A | < 0.100 |
| Reference Standard B | > A and < C |
| Reference Standard C | > B and < D |
| Reference Standard D | > C and < E |
| Reference Standard E | > D and < F |
| Reference Standard F | > E |

After validating the Reference Standards, the Calibration Curve and calculation of the Control concentration must be carried out, as described in the CALCULATIONS item. Check that the results obtained are within the range referenced on the Controls label.

If the absorbance values of the Reference Standards and/or the concentration of the Controls are outside the expected values, the technique must be repeated.

### CALCULATIONS

A calibration curve is used to determine the TSH concentration in unknown samples.

**Preparation of the Calibration Curve**

If they were performed in duplicate, calculate the average absorbances obtained in the microplate reader for each of the Reference Standards (A-F), as in the example:

| Standard Reference | Concentration (See Label) | Absorbance | Medium Absorbance |
|---|---|---|---|
| A | 0.0 | 0.039 | 0.042 |
| | | 0.045 | |
| B | 10.0 | 0.305 | 0.299 |
| | | 0.293 | |
| C | 20.0 | 0.507 | 0.503 |
| | | 0.498 | |
| D | 50.0 | 0.912 | 0.909 |
| | | 0.905 | |
| E | 100.0 | 1.415 | 1.407 |
| | | 1.399 | |
| F | 200.0 | 2.152 | 2.075 |
| | | 1.997 | |

Plot the average absorbances of each Reference Standard (A-F) versus the corresponding concentration in µUI/mL on graph paper or using computer programs. Plot the curve point by point.

**Calculation of TSH Concentration of Samples**
Calculate the concentration of each sample analyzed from the Calibration Curve made on graph paper, interpolating the absorbance value obtained when reading the sample with the corresponding concentration value (µUI/mL). The calculation of the concentration of the tested samples can also be carried out using suitable computer programs, through linear regression.

The kit's measurement range is between 0.45 and 200.00 µIU/mL (analytical sensitivity and maximum point of the curve, respectively). Results below the lower limit of detection should be expressed as <0.45 µIU/mL. Results above the upper limit of detection must be expressed as >200.00 µIU/mL.

**Note:** The data presented is for illustration only and cannot be used to replace the calibration curve, which must be constructed in the laboratory. The Reference Standards and Controls provided in the kit must always be tested with each new assay.

**REFERENCE VALUES**

| | | |
|---|---|---|
| **Adults** | **Normal** | < 4.0 µUI/mL |
| | **Undetermined / Limit** | 4.0 – 5.5 µUI/mL |
| | **Changed** | > 5.5 µUI/mL |

| | | |
|---|---|---|
| **Neonates** | **Normal** | < 8.0 µUI/mL |
| | **Undetermined / Limit** | 8.0 – 12.0 µUI/mL |
| | **Changed** | > 12.0 µUI/mL |

These values should be used as a guideline, and each laboratory should create its range of reference values according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, and are not the only criteria for determining the patient's diagnosis and/or treatment.

**PROCESS LIMITATIONS**
**1-** The BIOLISA TSH DBS product is intended for screening hypothyroidism in adults and neonates. Patients with borderline and altered values in filter paper samples must be confirmed with serum dosage for exact values.
**2-** The use of dried blood samples on filter paper that were collected, dried and stored unsatisfactorily may generate inadequate results.
**3-** It is recommended that the guidelines established for neonatal screening and diagnosis of congenital hypothyroidism in each region be followed.
**4-** TSH concentrations may vary between different immunoassay manufacturers, due to the diversity of available antigens and antibodies used in the manufacture of each test.
**5-** The interpretation of a diagnostic test should not be established based on a single test. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information prior to definitive diagnosis.

**INTERFERENCES**
No interference was observed by Triglycerides 1500 mg/dL, Acetylsalicylic Acid 20 mg/dL, Ascorbic Acid 2 g/dL, Creatine 200 mg/dL, Bilirubin 1 g/dL, Albumin 2 g/dL, Hemoglobin 1000 mg/dL, Acid Oxalic 60 mg/dL, C-Reactive Protein 41.2 mg/dL, anti-Streptolysin O 1023 IU/mL and Rheumatoid Factor 1080 IU/mL.

**CROSS REACTIVITY**
A cross-reactivity study was performed, evaluating 40 dried blood samples on filter paper with low concentrations of TSH, but with known high concentrations of other analytes. Among them, 10 samples with Human Chorionic Gonadotropin (hCG) up to 50,000 mIU/mL, 10 samples with Follicle Stimulating Hormone (FSH) up to 1,000 mIU/mL, 10 samples with Luteinizing Hormone (LH) up to 1,000 mIU/mL and 10 samples with Prolactin up to 1,000 ng/mL. No false positive results were observed for the above analytes, up to the maximum concentration tested. Despite the results found, the possibility of cross-reactivities with other analytes or with higher concentrations cannot be completely ruled out. The final diagnosis must consider the patient's clinical data together with other laboratory data.

**INTERNAL QUALITY CONTROL**
The Clinical Laboratory must have an internal quality control program, where procedures, standards, limits and tolerance for variations are clearly established. It is important to highlight that all measurement systems present a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. To this end, it is recommended to use controls, which allow evaluating the precision and accuracy of the dosages.

**PRODUCT PERFORMANCE**
**PRECISION**
**Repeatability**
Repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

| Repeatability | SAMPLE | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| Average | 2.610 | 0.471 | 0.083 |
| Standard Deviation | 0.229 | 0.049 | 0.010 |
| Coefficient of Variation (%) | 8.77 | 10.42 | 12.49 |

**Reproducibility**
Reproducibility was calculated from 10 successive determinations over 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

| Reproducibility | SAMPLE | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| Average | 2.603 | 0.471 | 0.094 |
| Standard Deviation | 0.244 | 0.046 | 0.014 |
| Coefficient of Variation (%) | 9.36 | 9.82 | 14.85 |

**ANALYTICAL SENSITIVITY**
The analytical sensitivity of the BIOLISA TSH DBS kit is 0.45 µIU/mL.

**LINEARITY**
The reaction is linear up to the concentration at the highest point of the calibration curve.

**HIGH DOSE PRO-ZONE EFFECT**
No high-dose prozone effect was observed at up to 1,000 µIU/mL TSH.

**DIAGNOSTIC MEANING**
Thyroid Stimulating Hormone (TSH) is a glycoprotein hormone secreted by the anterior pituitary gland. TSH is made up of two subunits, α and β. The α subunit of TSH is similar to the α subunit found in other glycoprotein hormones such as LH, FSH and hCG. However, the β subunit is specific and differs from hormone to hormone. Thyroid hormones (T4 and T3) are secreted and produced by the thyroid gland, under the regulation of TSH. Furthermore, TSH controls iodide transport and stimulates the secretion of thyroglobulin, the main protein component of the thyroid gland, into the bloodstream. Therefore, TSH plays an important role in the proper functioning and development of the thyroid gland. Thyroid hormone concentrations control TSH secretion through negative feedback. For example, in primary hypothyroidism, the serum T4 and T3 level are low while the TSH level is high. Likewise, in primary hyperthyroidism, the serum level of T4 and T3 are high while the level of TSH is low. When the cause is secondary, that is, it is a pituitary dysfunction, T4, T3 and TSH are equally high or low. Therefore, for diagnosis and monitoring of thyroid dysfunctions, it is recommended to test both glycoprotein hormone and T4/T3 hormones. Furthermore, TSH determinations are also useful for monitoring patients receiving thyroxine replacement therapy. Hypothyroidism is a disorder characterized by decreased production of the thyroid hormones T3 and T4. In adults, the main cause is Hashimoto's Disease, a consequence of an autoimmune response against the thyroid. Depression, brachycardia, constipation, irregular menstruation, memory failures, excessive tiredness, muscle pain, dry skin, hair loss, weight gain and increased cholesterol are among the symptoms of hypothyroidism. Congenital hypothyroidism (CH) is a condition where the newborn produces low levels of thyroid hormones due to abnormal development of the thyroid gland. It is estimated that 1 in every 2,000 births have CH. Although there are no symptoms at birth in the vast majority of cases, congenital hypothyroidism can lead to serious problems with the physical and mental development of affected children if not properly diagnosed and treated with hormone replacement. Therefore, investigating CH using the heel prick test is widely recommended to prevent possible consequences of the disease. The quantification of TSH in dried blood samples on filter paper is effective for screening individuals with pathologies where high TSH levels are found, in addition to monitoring the treatment of these conditions.

**BIBLIOGRAPHIC REFERENCE**

1- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
2- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
3- Dayan, C. M. Interpretation of thyroid function tests. Lancet, 2001.
4- Parkers, I. L.; Schenker J. G. Shufaro, Y. Thyroid disorders during Pregnancy. Gyneccological Endocrinology, v. 28, n. 12, 2012.
5- Rawlins, M.; Roberts, W. L. Performance Characteristics of Six Third-Generation Assays for Thyroid-Stimulating Hormone. Clinical Chemistry, v. 50, v. 12, 2004.
6- Foley Jr, T. P. et al. Maternal Screening for Hypothyroidism and Thyroiditis Using Filter Paper Specimens. Journal of Women's Health, v. 22, n. 11, 2013.
7- Hofman, L. F. et al. Assays for thyroid-stimulating hormone using dried blood spotted filter paper specimens to screen for hypothyroidism in older children and adults. J Med Screen, v. 10, 2003.
8- American Academy of Pediatrics.Congenital Hypothyroidism: Screening and Management. Pediatrics, v. 151, n. 1, 2023.
9- Moat, S. J. et al. Use of Dried Blood Spot Specimens to Monitor Patients with Inherited Metabolic Disorders. Neonatal Screening, v. 6, 2020.
10- Ministério da Saúde. Manual Técnico de Triagem Neonatal Biológica. 2016.
11- Ministério da Saúde. Portaria nº 5 – Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Hipotireoidismo Congênito. 16 de abril de 2021.
12- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.


**QUALITY ASSURANCE**
Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is guaranteed until the expiration date mentioned on the presentation packaging, as long as they are stored and transported under appropriate conditions.

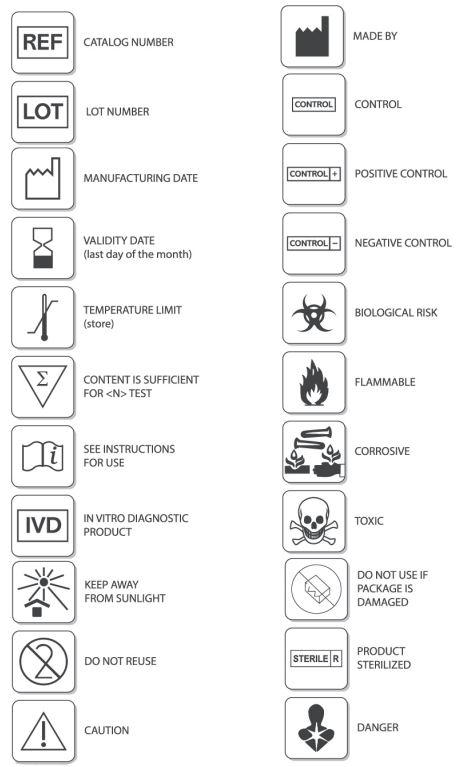

**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail:bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

**CUSTOMER SERVICE**
Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br



ANVISA registration for BIOLISA TSH DBS kit: 10269360449

**Review**: March/2024


## UNIVERSAL SYMBOLOGY