خلاصه روش کار

۱
- پانچ ۳ میلی متری لکه های خون خشک شده از استاندارد،کنترل،نمونه نوزاد
- افزودن µl ۱۰۰ بافر حلال خون
- ۱۲۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق (روی شیکر) یا ۱۵ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد

۲
- ۶ بار شستشو چاهک‌ها با µl ۳۵۰ محلول شستشو رقیق شده
- افزودن µl ۵۰ محلول آنزیم کونژوگه
- ۶۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق (روی شیکر)

۳
- ۶ بار شستشو چاهک‌ها با µl ۳۵۰ محلول شستشو رقیق شده
- افزودن µl ۱۰۰ محلول رنگ زا
- ۱۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق

۴
- افزودن µl ۱۰۰ محلول متوقف‌کننده
- خوانش میزان جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دیفرانسیل ۶۳۰ نانومتر

تهران،خیابان سهروردی شمالی،خیابان افشار جوان،پلاک ۲، واحد ۱۰
تلفن ویژه: ۷۲۴۵۷-۰۲۱
office@garnimed.com
www.garnimed.com

کاربرد

اندازه‌گیری غلظت TSH در لکه خون خشک شده به‌روش ایمونوآنزیماتیک
(Cat.No. DG.TSN.01) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

مقدمه

ساختار و نقش فیزیولوژیک: تیروتروپین یا هورمون محرک تیروئید (Thyroid stimulating hormone)، گلیگو پروتئینی با وزن مولکولی ۲۸ کیلو دالتون از دو زنجیره α و β ساخته شده است که با پیوندهای غیرکوالانسی به هم متصل شده اند. خصوصیات هورمونی و ایمونولوژیکی ویژه TSH توسط زیرواحد اختصاصی β ایجاد می شود. از لحاظ ساختار مولکولی زیر واحد آلفای TSH یا زنجیره α هورمون های گیلیکوپروتئینی(Human chronic gonadotropin) hCG، (Luteinizing hormone) LH و (Follicle stimulating hormone) FSH شباهت دارد.[۱]
تولید و ترشح TSH از سلولهای بازوفیل بخش پیشین غده هیپوفیز با مکانیسم فیدبک منفی تحت کنترل هورمونهای تیروئیدی T4 و T3 آزاد در خون است. بطوریکه افزایش سطح سرمی آنها باعث کاهش ترشح هورمون آزاد کننده تیروتروپین (Thyrotropin releasing hormone) مترشحه از هیپوتالاموس شده و به تبع آن میزان TSH سرمی کاهش می یابد و بالعکس. علاوه بر TRH، دو هورمون سوماتواستاتین و دوپامین نیز که از هیپوتالاموس ترشح می شوند بر ترشح TSH اثرگذار هستند لیکن این دو تاثیر بازدارندگی دارند.[۱،۲،۳]
وظیفه اصلی TSH تحریک رشد سلول های فولیکولی تیروئیدی و کنترل ترشح هورمون های T4 و T3 می باشد که از این طریق به صورت غیر مستقیم نقش اساسی در متابولیسم، تمایز و رشد سلولی بدن و فعالیت سیستم عصبی دارد.[۱،۳]
کاربرد بالینی: کم کاری تیروئید در دوران جنینی می تواند اختلالات غیرقابل بازگشت ساختاری و عملکردی در سیستم عصبی مرکزی و اسکلتی ایجاد کند اما انتقال تیروکسین مادری از طریق بند ناف به جنین از بروز علائم بالینی بارز در بدو تولد جلوگیری می کند. با توجه به خفیف بودن علائم این بیماری در روزهای اول زندگی، معمولاً تشخیص این نارسائی با تاخیر صورت می گیرد و منجر به از دست دادن ضریب هوشی به درجات مختلف در نوزادان می شود.[۴] لذا جهت جلوگیری از عوارض غیر قابل بازگشت این نارسایی ژنتیکی، غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان اولین بار در دهه هفتاد میلادی در ایالت کبک کانادا انجام گردید و با درمان سریع مبتلایان شناسائی شده از بروز عوارض مربوطه جلوگیری شد.[۵]
امروزه این غربالگری با استفاده از خون تام جذب شده بر روی کاغذ Whatman ۹۰۳ در تمامی کشورهای پیشرفته و غالب کشورهای در حال توسعه انجام می گردد. شیوع این بیماری در کشورهای مختلف، متفاوت می باشد. طبق تحقیقات صورت گرفته در کشورهای فوق فراوانی آن بین ۱:۳۰۰۰ تا ۱:۷۰۰۰ تولد گزارش شده است.
با توجه به آغاز برنامه غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان در کشور از سال ۱۳۸۴ و آمار بدست آمده از آن مشخص گردید که شیوع این بیماری مادرزادی در مناطق مختلف ایران بیش از میانگین آمار جهانی بوده و بین ۱:۲۵۰ تا ۱:۹۰۰ تولد می باشد. با توجه به شیوع بالا و قابل پیشگیری بودن عوارض بیماری در صورت درمان به موقع و صحیح، لزوم غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان در کشور مشخص می باشد.[۶]

اساس روش سنجش

مدت زمان انجام تست:
۱۲۰ دقیقه (در دمای اتاق، روی شیکر) + ۶۰ دقیقه + ۱۵ دقیقه
یا
۱۵ ساعت (در دمای ۴ درجه سانتیگراد) + ۶۰ دقیقه + ۱۵ دقیقه

طراحی کیت TSN بر اساس روش ایمونوآنزیماتیک ساندویچی با استفاده از آنتی بادیهای مونوکلنال می باشد. در این روش ابتدا از لکه های خون خشک شده بر روی کاغذ فیلتر ۹۰۳ شرکت Schleicher & Schuell حاوی خون نوزادان، استانداردها و کنترلها دایره هایی به قطر ۳ میلی متر جدا کرده و درون چاهکها قرار می دهند. آنالیت TSH طی دو مرحله بین آنتی بادی تثبیت شده در ته چاهکهای پلی استایرنی و آنتی بادی دوم متصل به آنزیم پراکسیداز (HRP) که شاخصهای آنتی ژنیک متمایزی را روی مولکول TSH شناسایی می کنند، قرار می گیرد.
پس از شستشو و خارج کردن آنالیتهای غیر متصل با افزودن سوبسترا، تترا متیل بنزیدین(TMB)، آنزیم رنگ آبی ایجاد می کند. با اضافه نمودن محلول متوقف کننده، رنگ آبی به زرد تبدیل می شود. شدت رنگ ایجاد شده که با غلظت TSH ارتباط مستقیم دارد، در طول موج ۴۵۰ نانومتر (با دیفرانسیل ۶۳۰ نانومتر) اندازه گیری می گردد.

توجه و احتیاط

- این کیت تشخیصی به صورت *in vitro* قابل استفاده می‌باشد.
- کلیه محلول‌های کیت آماده مصرف هستند، فقط محلول شستشوی غلیظ (20x) قبل از استفاده نیاز به رقیق‌سازی دارد.
- اجزای اختصاصی این کیت برای مصرف با اجزای هم سری ساخت کیت ارائه شده‌اند.
- اجزای عمومی کیت شامل محلول‌های شستشو، رنگ زا و متوقف‌کننده می‌باشند که برای سایر محصولات دیازیست نیز قابل استفاده هستند.
- توصیه می‌شود در هر تست استانداردها جهت رسم منحنی استفاده شوند، همچنین درصورتی که همزمان بیش از یک پلیت تست گذاشته شود، رسم منحنی برای هر پلیت ضروری است.
- کالیبره بودن ابزارها و دستگاه‌ها در صحت نتایج اثرگذار است.
- جهت ساخت اجزای این کیت از مواد شیمیایی و زیستی استفاده شده است. لذا توصیه می‌شود هنگام کار از تماس مستقیم با مواد پرهیز نمایید.

محتویات کیت

اجزای تشکیل دهنده کیت ۹۶ و ۱۹۲ تستی Neonatal TSH به شرح زیر می باشد:

ردیف	نام اجزاء	مقدار/تعداد	بسته‌بندی
۱	پلیت پوشانده شده با آنتی‌بادی مونوکلنال ضد TSH (Anti-TSH Antibody Coated Microtiter Plate)	1/96 wells	۹۶تستی
		2/96 wells	۱۹۲تستی
۲	استانداردهای A-F (Standard A-F) کالیبراسیون برمبنای استاندارد WHO (3th IS 81/565)	6 /1 Dried blood spots	۹۶تستی
			۱۹۲تستی
۳	کنترل پایین و بالا (Controls Low & High) کالیبراسیون برمبنای استاندارد WHO (3th IS 81/565)	2 /1 Dried blood spots	۹۶تستی
			۱۹۲تستی
۴	بافر حلال خون (Assay Buffer)	1/12 ml	۹۶تستی
		1/25 ml	۱۹۲تستی
۵	محلول شستشوی غلیظ (Concentrated Wash Buffer)	1/25 ml	۹۶تستی
		2/25 ml	۱۹۲تستی
۶	محلول آنزیم (HRP) کونژوگه شده به آنتی بادی ضدTSH (Anti-TSH Antibody- HRP Conjugate)	1/6 ml	۹۶تستی
		1/12 ml	۱۹۲تستی
۷	محلول رنگ زا (TMB Substrate)	1/12 ml	۹۶تستی
		1/25 ml	۱۹۲تستی
۸	محلول متوقف‌کننده (Stop Solution)	1/12 ml	۹۶تستی
		1/25 ml	۱۹۲تستی

شرایط نگهداری و پایداری

- کیت را در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد نگهداری کنید.
- پایداری کیت در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد، قبل از شروع استفاده (In Shelf) و حین استفاده(In use) بر مبنای استاندارد CLSI (EP25 A) [۷] بررسی گردید که نتایج به شرح زیر می‌باشد:

قبل از شروع استفاده (In Shelf)	تا پایان تاریخ انقضا
حین استفاده (In use)	تا ۶ ماه

جمع آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

سن مناسب جهت انجام بررسی کم کاری تیروئید در نوزادان، ۵-۳ روزگی یعنی ۱۲۰-۷۲ ساعت پس از تولد می باشد.[۸] نمونه مناسب جهت انجام آزمایش خون تام جذب شده بر روی کاغذ فیلتر ۹۰۳ شرکت Schleicher & Schuell است که ترجیحاً از پاشنه پای نوزاد گرفته می شود. نحوه نمونه گیری مطابق دستورالعمل کشوری[۸] و استاندارد NCCLS LA4-A4[۹] انجام می گیرد بدین ترتیب که ابتدا پاشنه پا را گرم کرده و بعد با الکل ۷۰ درصد تمیز نموده و اجازه دهید الکل روی پوست خشک شود. سپس در حالیکه پاشنه پا از سطح قلب نوزاد پایین تر است با لانست ضربه ای یکنواخت و آرام در حاشیه کناری پاشنه پا وارد نمایید. قطره اول را با گاز استریل پاک نمایید. با ماساژ آرام که به پاشنه می دهید قطرات بعدی را روی کاغذ فیلتر۹۰۳ بنشانید. خون جذب شده باید تمام دایره را از دو طرف بپوشاند و آن را اشباع کند.

کیت سنجش Neonatal TSH

DiaZist

به تعداد لازم نمونه گیری را انجام داده سپس کاغذ را به صورت افقی بر روی سطح تمیز قرار دهید. از تماس دست با دایره های کاغذ فیلتر قبل و بعد از خونگیری، خودداری شود. لازم است نمونه ها به مدت ۳ ساعت در مجاورت هوای تمیز در دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد، دور از تابش مستقیم آفتاب خشک شوند. نمونه های خشک شده باید دور از رطوبت و در یخچال (دمای ۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شوند. طبق دستورالعمل کشوری برای نوزادان با شرایط خاص (از جمله نوزادان با نتیجه آزمون غربالگری بین ۹/۹-۵، نارس، کم وزن، دو قلو و...) می بایست نمونه گیری و آزمایش در هفته دوم (۱۴-۸ روز) بعد از تولد تکرار شود.[۸]

مواد و وسایل لازم که همراه کیت عرضه نمی شوند

- دستگاه الایزا ریدر دارای فیلتر **۴۵۰** و **۶۳۰** نانومتر کالیبر شده
- سمپلرهای **۱۰۰** و **۵۰** میکرولیتر کالیبر شده
- سرسمپلرهای یک‌بار مصرف
- آب مقطر برای رقیق سازی محلول شستشوی غلیظ
- پانچر **۳** میلی متری
- شیکر

روش انجام تست

قبل از انجام تست:

- تمام مواد و نمونه ها را به دمای اتاق (**۲۵-۲۰** درجه سانتیگراد) برسانید.
- برای تهیه محلول شستشوی قابل مصرف، یک حجم محلول شستشوی غلیظ(20x) را با **۱۹** حجم آب مقطر رقیق نمایید.

مراحل انجام تست:

۱. با پانچر مخصوص دایره هایی به قطر **۳** میلی متر از لکه های خشک شده خون استانداردها، کنترلها و نوزادان جدا نموده و در چاهک مربوطه بیاندازید. سپس به هر چاهک **۱۰۰** میکرولیتر بافر حلال خون اضافه نموده و پلیت را روی میز تکان دهید تا محتویات آن به خوبی مخلوط شوند.

۲. روی چاهکها را با برچسب مخصوص پوشانده و **۱۲۰** دقیقه در دمای اتاق (روی شیکر) یا **۱۵** ساعت در دمای **۴** درجه سانتیگراد، قرار دهید.

۳. چاهک‌ها را **۶** بار با **۳۵۰** میکرولیتر محلول شستشو بشویید.

۴. به هر چاهک **۵۰** میکرولیتر محلول آنزیم کونژوگه اضافه نمایید. به مدت یک ساعت در دمای اتاق (روی شیکر) قرار دهید.

۵. چاهک‌ها را **۶** بار با **۳۵۰** میکرولیتر محلول شستشو بشویید.

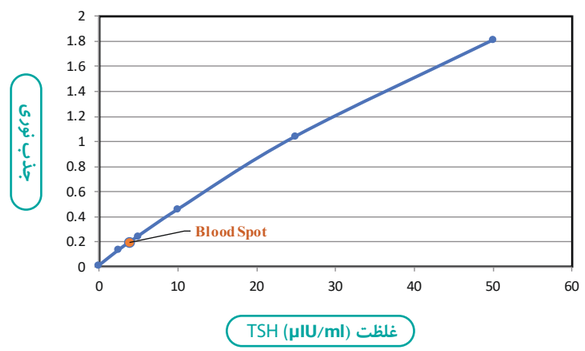
۶. به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگ زا اضافه نمایید و پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.

۷. به هر چاهک **۱۰۰** میکرولیتر محلول متوقف کننده اضافه نمایید و بعد از مخلوط کردن به مدت **۱۵** ثانیه، میزان جذب نوری را در طول موج **۴۵۰** نانومتر با دیفرانسیل **۶۳۰** نانومتر، حداکثر تا **۱۵** دقیقه بعد از افزودن محلول متوقف کننده، بخوانید.

محاسبه نتایج

غلظت TSH نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد (رسم به‌صورت دستی یا دستگاه الایزا ریدر) تعیین می‌گردد. در این منحنی جذب نوری استانداردها را در طول موج **۴۵۰** نانومتر بر روی محور عمودی (Y) و غلظت آن‌ها را بر حسب μIU/ml بر روی محور افقی (X) مشخص کنید و بر اساس آن منحنی را رسم نمایید. با استفاده از منحنی ترسیم شده و جذب نوری بدست آمده از نمونه، غلظت TSH آن قابل محاسبه می‌باشد. جدول و نمودار زیر به عنوان مثال ارائه شده است.

نمونه	جذب نوری	میانگین جذب نوری	غلظت TSH (μIU/ml)
استاندارد A	۰/۰۵۲ ۰/۰۵۴	۰/۰۵۳	۰
استاندارد B	۰/۱۳۴ ۰/۱۴۰	۰/۱۳۷	۲/۵
استاندارد C	۰/۲۵۶ ۰/۲۴۱	۰/۲۴۸	۵
استاندارد D	۰/۴۶۱ ۰/۴۶۰	۰/۴۶۰	۱۰
استاندارد E	۱/۰۴۵ ۱/۰۵۹	۱/۰۵۲	۲۵
استاندارد F	۱/۸۸۳ ۱/۷۳۳	۱/۸۱	۵۰
کنترل پایین	۰/۲۴۰	-	۴/۸۰
کنترل بالا	۰/۴۹۲	-	۱۰/۸۰
لکه خون	۰/۱۹۵	-	۳/۸۰



کنترل کیفی

تست در صورتی تأیید می گردد که:

- جذب نوری استاندارد صفر کمتر از ۰/۰۹ باشد.
- جذب نوری استاندارد آخر بیش از **۱/۲** باشد.
- خوانش کنترل‌های پایین و بالای کیت در محدوده مورد قبول باشد.
- توصیه می‌گردد جهت حصول اطمینان از نتایج کیت، علاوه بر کنترل‌های ارائه شده در کیت، به صورت دوره‌ای از کنترل‌های دقت و صحت تجاری نیز استفاده گردد. بدیهی است نتایج بدست آمده بایستی در محدوده مورد قبول قرائت گردد.

تداخل‌ها و محدودیت‌ها

- جهت بررسی اختصاصیت آنتی بادی به کار رفته در این کیت، اثر تداخلی آنالیتهای هورمونی FSH (تا ۵۰۰ mIU/ml)، LH (تا ۵۰۰ mIU/ml) و hCG (تا ۲۰۰,۰۰۰ mIU/ml) بررسی گردید. نتایج در جدول زیر آمده است.

ماده افزوده شده	درصد تداخل (Cross-reactivity)
FSH	<۰/۱
LH	<۰/۱
hCG	<۰/۱

- اثر تداخلی بیلی روبین (تا ۲۰ mg/dl)، هموگلوبین (تا ۵۰۰ mg/dl)، تری گلیسیرید (تا ۳۰۰۰ mg/dl) و فاکتورهای روماتوئید(تا ۳۲۵۰ IU/ml) در سرم کمتر از ۵٪ می باشد.
- در این کیت برای نمونه‌های رقیق نشده تا غلظت (تا ۵۰۰ μIU/ml) اثر هوک دیده نشد.

کیت سنجش Neonatal TSH

DiaZist

- نمونه سرم یا پلاسمای افرادی که سابقه درمان یا تشخیص بیماری با مواد حاوی آنتی‌بادی مونوکلنال موش داشته‌اند، می‌تواند حاوی آنتی بادی‌های انسانی ضد موش (HAMA) باشد. با توجه به غلظت آنتی‌بادی و مواد بازدارنده مورد استفاده در این کیت، واکنش‌های تداخلی غیر اختصاصی به حداقل رسیده و تا کنون واکنش مثبت کاذب مشاهده نشده است.
- محدوده قابل اندازه‌گیری غلظت TSH با این کیت، ۵۰- ۰/۲ μIU/ml می‌باشد.

مقادیر طبیعی

با استفاده از **۶۹۸** لکه خون تام بدست آمده از نوزادان استانهای مختلف کشور مقادیر طبیعی TSH تعیین گردید. در بررسی های انجام شده غلظت TSH نوزادان با **۹۶٪** حدود اطمینان (۹۶٪ CI) کمتر از **۵** μIU/ml با میانگین **۱/۸** μIU/ml و انحراف معیار **۱/۶** بدست آمد.

بر اساس دستورالعمل کشوری حد تمایز (Cut Off) آزمون غربالگری TSH برای نمونه های تهیه شده روی کاغذ فیلتر تا پایان هفته اول تولد، **۵** μIU/ml و بعد از آن **۴** μIU/ml می باشد. نوزادانی که میزان TSH آنها بیش از حد تمایز کشوری باشد جهت آزمایشهای تاییدی فراخوان می شوند. میزان متوسط فراخوان در استانهای مختلف کشور ۵-۳ درصد است.[۶،۱۰] تایید تشخیص هیپوتیروئیدی نوزادان فوق پس از انجام آزمایشهای T3 uptake , Free T4 ,TSH, T4 بر روی سرم انجام می گیرد.[۶] قابل ذکر است غلظت TSH سرمی نوزادان با در نظر گرفتن میانگین هماتوکریت (۵۵ درصد)، ۲/۲ برابر TSH خون تام می باشد.[۱۱] توصیه می شود مراکز غربالگری برای تفسیر نتایج خود با در نظر گرفتن شرایط نوزاد (سن، وزن تولد، دو قلو یا چند قلو بودن و...) طبق دستورالعمل کشوری عمل نمایند.[۸]

ویژگی‌های اختصاصی کیت

۱. حساسیت: حداقل غلظت قابل اندازه گیری TSH که از نمونه فاقد آنالیت قابل تمایز باشد را حساسیت گویند. این مقدار که بر اساس میانگین غلظت استاندارد صفر بعلاوه دو برابر انحراف معیار محاسبه گردیده است (**بدست آمده از ۱۰ تست**)، ۰/۲ μIU/ml می‌باشد.

۲. صحت: به منظور بررسی صحت جواب کیت TSH نوزادان، نتایج بدست آمده با این کیت به دو روش ارزیابی گردید:

مقایسه با روش مرجع با استفاده از لکه خون تام نوزادان:

غلظت TSH، **۶۹۸** لکه خون تام بدست آمده از نوزادان با کیت دیازیست و روش ایمونوآنزیماتیک (EIA) اندازه‌گیری شد. نتایج بدست‌آمده از مقایسه دو روش ضریب همبستگی خطی (r) **۰/۹۸** را نشان می‌دهد. غلظت نمونه ها با کیت دیازیست بین **۰/۰۶** μIU/ml **تا ۱۶/۴** و با روش مرجع بین **۰/۱** μIU/ml **تا ۱۶/۳** بود. نتایج مقایسه دو روش به شرح زیر است:

روش	تعداد نمونه	غلظت نمونه‌ها (μIU/ml)	Intercept	Slope
Passing/Bablok	۶۹۸	۰/۱-۱۷	-۰/۰۵۶	۱/۰۲
Linear Regression	۶۹۸	۰/۱-۱۷	-۰/۰۳۷	۱/۰۱

مقایسه با روش مرجع با استفاده از سرم:

غلظت TSH، **۲۰۰** لکه خون تام بدست آمده از نوزادان با کیت دیازیست و روش Enzyme linked Fluorescent Assay (ELFA) اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده از مقایسه دو روش ضریب همبستگی خطی (r) **۰/۹۹** را نشان می‌دهد. غلظت نمونه ها با کیت دیازیست بین **۰/۴۹** μIU/ml **تا ۲۱/۹۶** و با روش مرجع بین **۰/۵۴** μIU/ml **تا ۲۲/۶۴** بود. نتایج مقایسه دو روش به شرح زیر است:

روش	تعداد نمونه	غلظت نمونه‌ها (μIU/ml)	Intercept	Slope
Passing/Bablok	۲۰۰	۰/۴-۲۳	۰/۰۳۷	۱/۰۳
Linear Regression	۲۰۰	۰/۴-۲۳	-۰/۲۵۰	۱/۰۶

۳. دقت: شاخص دقت این کیت بر مبنای استاندارد CLSI (EP5 -A2) [۱۲] ارزیابی گردیده است. بدین منظور میزان TSH **۳** نمونه با غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری و انحراف معیار و ضریب تغییرات محاسبه گردید که در جدول زیر آمده است:

شماره نمونه	تعداد سنجش	میانگین غلظت (μIU/ml)	Within Run		Total	
			SD	٪CV	SD	٪CV
۱	۶۰	۲/۴۶	۰/۱۸	۷/۴۲	۰/۱۹	۷/۷۴
۲	۶۰	۵/۵۲	۰/۳۴	۶/۱۶	۰/۳۴	۶/۲۵
۳	۶۰	۱۳/۹۰	۱/۵۲	۱۰/۹۲	۱/۵۵	۱۱/۱۵

۴. خطی بودن: به منظور بررسی صحت اندازه‌گیری نمونه‌های با غلظت بالای ULoQ (upper limit of quantitation) تست خطی بودن این کیت بر مبنای استاندارد CLSI (EP34)[۱۳] انجام گردید. بدین منظور نمونه خون سیتراته با غلظت **۴۶/۰۶** μIU/ml با نمونه خون سیتراته با غلظت **۰/۴۶** μIU/ml به صورت متوالی رقیق شدو روی کاغذ ۹۰۳ نمونه گذاری شد. سپس غلظت‌ها با کیت Neonatal TSH اندازه‌گیری گردید. درصد ریکاوری رقت که شاخص میزان دقت رقت‌گیری می باشد، طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\frac{\text{غلظت اندازه‌گیری شده (μIU/ml)}}{\text{غلظت مورد انتظار (μIU/ml)}} \times ۱۰۰$$

(محدوده درصد ریکاوری بدست آمده بین ۹۷ تا ۱۱۵/۸ است)

٪ ریکاوری	غلظت اندازه گیری شده (μIU/ml)	غلظت مورد انتظار (μIU/ml)	رقت
۹۹/۴	۲۴/۴۴	۲۳/۰۳	۱:۲
۱۰۳	۱۲/۰۶	۱۱/۷۴	۱:۴
۹۷	۵/۸۲	۶/۱۰	۱:۸
۱۱۵/۸	۳/۵۲	۳/۲۸	۱:۱۶

منابع

1. Roelfsema F, Veldhuis J.D. Thyrotropin Secretion Patterns in Health and Disease. Endocrine Reviews, April 10, 2013.
2. Nikrodhanond A. A. and *et.al*. Dominant role of thyrotropin-releasing hormone in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, December 8, 2005.
3. Kim HY., Mohan S. Role and Mechanisms of Actions of Thyroid Hormone on the Skeletal Development. Bone Research.2: 146-61, 2013.
4. Rastogi M.V, LaFranchi S. H. Congenital hypothyroidism. Orphanet Journal of Rare Diseases. 5:17, 2010.
5. Dussault J.H. The Anecdotal history of screening for congenital hypothyroid ism. The journal of clinical endocrinology & Metabolism. 84:12, 1999.
6. وزارت بهداشت، درمان و آموزش کشور، غربالگری کشوری نوزادان، برنامه کشوری غربالگری بیماری کم کاری تیرویید نوزادان: دستورالعمل ویژه پزشکان.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Stability of *In Vitro* Diagnostic Reagents; Approved Guideline – First Edition NCCLS Document EP25-A. 2009.
8. دکتر شهین یاراحمدی، دکتر نسرین آزنگ. وزارت بهداشت، درمان و آموزش کشور، غربالگری کشوری نوزادان، برنامه کشوری غربالگری بیماری کم کاری تیرویید نوزادان: دستورالعمل ویژه بهورز و مراقب سلامت.۱۳۹۵
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard—Fourth Edition. NCCLS document LA4-A4, 2003.
10. Najafian B, *et al*. Neonatal screening for congenital hypothyroidism in a university hospital in Tehran, Iran. J Compr Ped. 7:2, 2016.
11. Jopling J., et al. Reference ranges for hematocrit and blood hemoglobin concentration during the neonatal period: data from a multihospital health care system. Pediatrics.123, 2009.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline. Second Edition. NCCLS DocumentEP5-A2. 2004.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Establishing and Verifying an Extended Measuring Interval Through Specimen Dilution and Spiking. First Edition. EP34. 2018.

Published: Dec. 2018