

For the Quantitative Measurement of Thyroid Stimulating Hormone (TSH) in Human Plasma

The concentration of Thyroid Stimulating Hormone (TSH) in a given specimen determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. The results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the TSH assay method used. Values obtained with different assay methods should not be used interchangeably.

CAUTION: United States Federal law restricts this device to sale and distribution by or on the order of a physician, or to a clinical laboratory; and use is restricted to, by or on the order of a physician.

INTENDED USE

The FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay is a paramagnetic particle immunoassay for the *in-vitro* quantitative determination of TSH in human plasma. The measurements of thyroid stimulating hormone (TSH) produced by the anterior pituitary are used in the diagnosis of thyroid or pituitary disorders. The FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay is designed for use with the FastPack® IP System.

SUMMARY

Thyroid hormones (T4 and T3) have many actions and are indispensable for growth, development, and sexual maturation. Actions include stimulation of heart rate and heart contraction, stimulation of protein synthesis and carbohydrate metabolism, increase in the synthesis and degradation of cholesterol and triglycerides, increase in vitamin requirements, and enhancement of sensitivity of β -adrenergic receptors to catecholamines^{1,2}. Therefore, thyroid dysfunction can have a profound global effect.

A tightly coordinated feedback relationship exists among the thyroid gland, hypothalamus, and pituitary gland³. The systems of these glands are closely interrelated and integrated, the result being maintenance of thyroid hormone levels in blood. Thyrotropin-releasing hormone (TRH), a tripeptide, is produced in the hypothalamus. TRH acts on the pituitary thyrotropes to cause synthesis and release of TSH⁷. TSH in turn controls the synthesis and release of thyroid hormones. A rise in thyroid hormone levels inhibits the pituitary response to TRH. A fall in thyroid hormone levels causes an increase in TRH and TSH secretion. A failure at any regulatory level of production of thyroid hormones (T4 and T3) will result in either underproduction (hypothyroidism) or overproduction (hyperthyroidism). With the advent of sensitive immunoassays, TSH has become one of the recommended analytes for evaluation of suspected thyroid dysfunction.

Human thyroid stimulating hormone (hTSH) or thyrotropin is a glycoprotein with a molecular weight of approximately 28,000 daltons, synthesized by the basophilic cells (thyrotropes) of the anterior pituitary^{2,8}. hTSH is composed of two non-covalently linked subunits designated alpha (α) and beta (β). The α -subunit of hTSH is common among several other hormones (follicle stimulating hormone, FSH; luteinizing hormone, LH; and human chorionic gonadotropin, hCG), however, the β -subunit is unique, and confers biological as well as immunological specificity. Both the α - and β - subunits are required for biological activity^{2,8}.

The FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay is based on the sandwich immunoassay principle: TSH in the sample (control or patient) is "sandwiched" between the two monoclonal antibodies during the first incubation. The TSH-antibody complex is then bound to the solid-phase paramagnetic particles. After washing the solid-phase to eliminate unbound reagents an alkaline phosphatase substrate is added. The amount of labeled anti-TSH antibody bound to the paramagnetic particles is directly proportional to the concentration of TSH in the sample.

TEST PRINCIPLE

The FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay is a chemiluminescence assay based on the "sandwich" principle.

- Primary incubation: Antibody solution (mixture of a biotinylated monoclonal TSH-specific antibody and a monoclonal TSH antibody labeled with alkaline phosphatase) [100 μ L] reacts with TSH from the patient's sample, control or calibrator [100 μ L].
- Secondary incubation: Streptavidin-coated paramagnetic particles are combined with the reaction mixture. During this incubation, the sandwich complex is bound to the solid-phase via the interaction of biotin and streptavidin.
- Removal of unbound materials: The paramagnetic particles are repeatedly washed with wash buffer [0.2 mL/wash] to remove unbound materials.
- Substrate addition and detection: Chemiluminogenic substrate [140 μ L] is added to the solid-phase bound complex and results in "glow" chemiluminescence, which is measured using the FastPack® IP System.
- The amount of bound labeled-antibody is directly proportional to the concentration of TSH in the sample.

REAGENTS – Content and Concentration

Each FastPack[®] IP carton contains:

- 30 FastPack[®] IPs

Each FastPack[®] carton contains:

- 50 FastPacks

Each FastPack[®] IP or FastPack[®] Contains:

- Paramagnetic Particles, 150 µL
Streptavidin-coated paramagnetic particles in buffer containing 0.1% sodium azide as a preservative.
- TSH Antibody Solution, 100 µL
Antibody solution containing a mixture of a biotinylated mouse monoclonal anti-TSH antibody and a second mouse monoclonal anti-TSH antibody labeled with alkaline phosphatase in a protein matrix containing Proclin[®] 150 as preservative.
- Wash Buffer, 2.0 mL
Tris buffer containing surfactants.
- Substrate, 140 µL
ImmuGlow[™]: Indoxyl-3-phosphate and lucigenin in buffer containing preservatives.

Materials required but not provided

- FastPack[®] IP System
- FastPack[®] TSH Calibrator Kit – Cat. No. 25000022
- FastPack[®] TSH Control Kit – Cat. No. 25000025

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For *in-vitro* diagnostic use only.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink or smoke in designated work areas.
- Wash hands thoroughly after handling specimen.
- HAMA Interference: some individuals have antibodies to mouse protein (HAMA), which can cause interference in immunoassays that employ antibodies derived from mice⁶.
- FastPack[®] IP and FastPack[®] reagents are stable until the expiration date on the label when stored and handled as directed. Do not use FastPack[®] IP and FastPack[®] reagents beyond the expiration date.
- Discard used FastPacks into a Biohazard container.
- The components containing Sodium are classified per applicable European Economic Community (EEC) Directives as: Very toxic and dangerous to the environment (T+ N). The following are appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases for sodium azide:
 - R28 Very toxic if swallowed.
 - R32 Contact with acids liberates very toxic gas.
 - R50/53 Very toxic to aquatic organisms. May cause long-term adverse effects in the aquatic environment.
 - S28 After contact with skin, wash immediately with plenty of soap-suds.
 - S45 In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible).
 - S60 This material and its container must be disposed of as hazardous waste.
 - S61 Avoid release to the environment. Refer to special instructions/safety data sheets.

STORAGE INSTRUCTIONS

Store at 2 – 8 °C.

SPECIMEN COLLECTION/PREPARATION

1. Plasma samples can be used for the FastPack[®] IP and FastPack[®] TSH Immunoassay.
2. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) provides the following recommendations for handling, processing and storing blood.^{4,5}
 - A. Collect all blood samples observing routine precautions for venipuncture.
 - B. For plasma samples:
 - Collect samples in a heparinized (green top) tube.
 - Mix the tube immediately after collection by gently inverting it several times.
 - Plasma should be separated from the cells by centrifugation within 3 hours from time of collection and stored at 2–8°. Transfer the plasma from the original tube for storage.
 - If not tested within 24 hours, the sample should be frozen at –20° C or colder.
 - C. Samples should be free of red blood cells, or other particulate material for optimal results.
 - D. Samples showing turbidity and particulate matter should be centrifuged prior to use.
 - E. Ensure the samples are free of bubbles.

ASSAY PROCEDURE

See the FastPack® IP System Procedure Manual for detailed instructions for running the FastPack® IP and FastPack® assays.

INSTRUMENTATION

FastPack® IP System

DETAILS OF CALIBRATION

During the FastPack® IP and FastPack® production process, Qualigen generates a master standard curve and places this information in the barcode of each FastPack® IP and FastPack® label, where it can be read by the FastPack® IP System analyzer during the testing sequence. The FastPack® IP System analyzer must be calibrated by the end user so that it is properly adjusted for the particular lot of FastPacks that are being used. Separate calibrations must be run for each type of test, i.e. Total PSA, Testosterone, or TSH. The frequency of calibration varies for each test type. For the FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay, the FastPack® IP System analyzer must be calibrated once every 14 days or whenever a new lot of TSH FastPacks are to be used.

Whenever the user performs a calibration for a particular lot of FastPacks or uses a new lot of calibrator, 2 FastPacks must be run for calibration (duplicates). When the calibration expires (14 days after initial calibration) 2 FastPacks must be run for calibration. See FastPack® IP System Procedure Manual for "Running a Calibration".

Use FastPack® TSH Calibrator Kit – Cat. No. 25000022

RESULTS

The FastPack® IP System analyzer uses the information from the barcode to construct a lookup table of x,y values that represent the standard curve and estimates the concentration of unknown samples by linear interpolation.

QUALITY CONTROL

Quality control materials simulate real specimens and are essential for monitoring the system performance of assays. Good Laboratory Practices (GLP) include the use of control specimens to ensure that all reagents and protocols are performing properly. See FastPack® IP System Procedure Manual for "Control Testing". At least two levels of quality control materials should be used.

Users should follow the appropriate federal, state and local guidelines concerning the running of external quality controls.

Controls available: FastPack® TSH Control Kit – Cat. No. 25000025

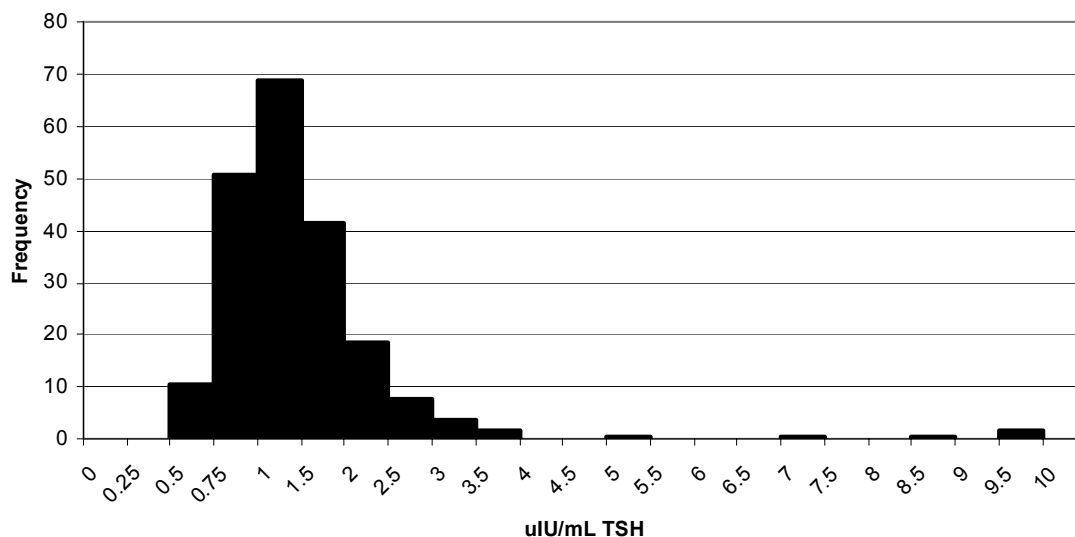
LIMITATION OF PROCEDURE

- Plasma samples to be collected using heparin as the anticoagulant.
- Specimens can be measured within the reportable range of the functional sensitivity and the upper end of the calibration range, 100 µIU/mL.
- Samples >100 µIU/mL should be reported as such or re-run using another method. Samples may be diluted using the zero calibrator (Cal A) until within range of the assay.
- FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay does not show a high-dose hook effect up to 5,000 µIU/mL.
- Specimen from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits employing mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in a sample have the potential to cause interference in immunoassay systems. Infrequently, TSH levels may appear depressed due to heterophilic antibodies present in the patient's sample or to nonspecific protein binding. If the TSH level is inconsistent with clinical evidence, additional TSH testing is suggested to confirm the result.
- For diagnostic purposes, the FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.
- The TSH assay has not been evaluated in Point of Care settings.
- Performance of this assay has not been established with neonatal specimens.

EXPECTED VALUES

Samples were obtained from 211 individuals. Samples were obtained from apparently healthy blood donors without any clinically abnormal indications. TSH levels were determined using the FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay in conjunction with the FastPack® IP System in order to establish the TSH concentration in the normal population. The normal range (central 95 percentile) for the FastPack® IP and FastPack® TSH Immunoassay is 0.66 – 5.45 µIU/mL. The expected range reflects the donor population of this study group. Each laboratory should determine their own reference range appropriate for their population.

Frequency Distribution of TSH Values
Based on Qualigen's FastPack® IP System
(n = 211)



SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision

The reproducibility of the TSH assay was measured by testing pooled plasma samples in duplicate for each sample over ten days using three analyzers and two lots of reagents. Precision is expressed as the Coefficient of Variation. The samples used to assess precision were spread out over the linear range of the assay.

Sample	Number of Samples (N)	Mean (µIU/mL)	Between Run CV%	Between Analyzer CV%	Between Reagent Lot CV%	TOTAL CV%
1	117	1.54	7.4	0.5	0.3	9.7
2	117	12.39	5.2	1.1	4.8	7.5
3	120	46.30	5.1	5.0	1.1	9.5

In addition to the above samples, control materials were tested using three analyzers and two lots of reagents. Precision is expressed as the Coefficient of Variation. The control samples used to assess precision bracket the expected values for apparently health individuals.

Sample	Number of Samples (N)	Mean (µIU/mL)	Between Run CV%	Between Analyzer CV%	Between Reagent Lot CV%	TOTAL CV%
1	48	0.54	13.8	13.3	4.0	20.0
2	48	4.69	6.0	5.8	4.8	7.0

Spike Recovery

Known concentrations of TSH were added to a plasma pool, and the resulting concentration of each spiked sample was determined using the FastPack[®] IP and FastPack[®] TSH immunoassay. The resulting percent recoveries are summarized in the table below.

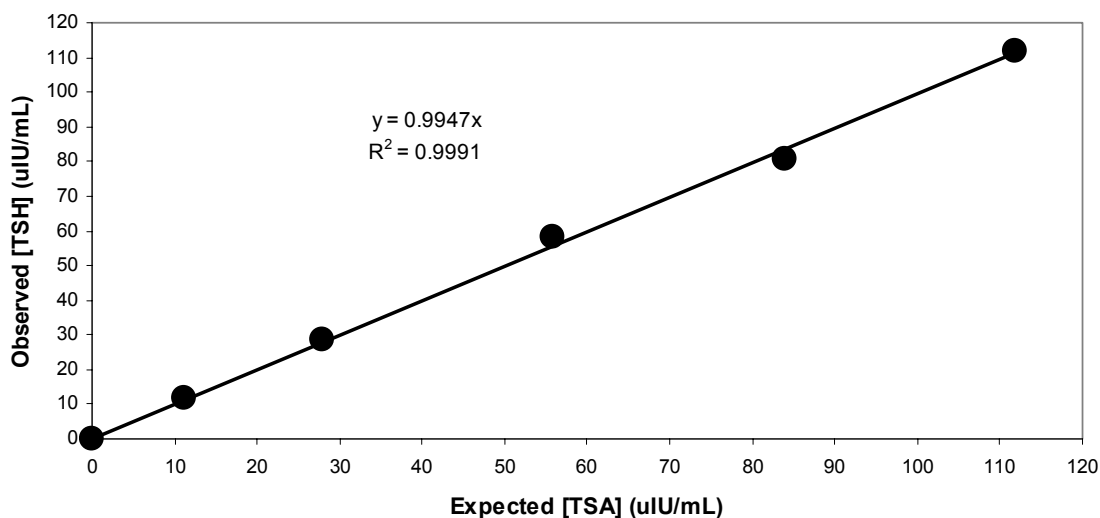
Concentration Added μIU/mL	Expected Value μIU/mL	Observed Value μIU/mL	% Recovery
0.0	1.58	1.58	100.0
0.5	2.08	2.07	99.8
2.5	4.08	4.37	107.2
5.0	6.58	6.97	105.9
20.0	21.58	20.93	97.0

Linearity

Linearity was determined by dilution of a human plasma clinical sample of known TSH concentration using a protein-based Tris buffer diluent (Calibrator A). The FastPack[®] IP and FastPack[®] TSH assay is linear over the range of 0.13 μIU/mL (functional sensitivity level) to 100 μIU/mL. (% Recovery = (Observed value/Expected Value X 100).

Linearity Sample Patient sample to Diluent	Expected Value μIU/mL	Observed Value μIU/mL	% Recovery
100%	111.8	111.8	100.0
75%	83.9	80.6	96.1
50%	55.9	58.2	104.1
25%	28.0	28.8	103.0
10%	11.2	11.8	105.0
0%	0.0	0.0	—

Linearity of TSH FastPack[®] IP and FastPack[®] Assay



Dilution

Three plasma samples were diluted 50%, 25% and 12.5% using the zero level TSH calibrator. The table below summarizes the percent recoveries for each dilution level.

Sample 1	Expected Value μIU/mL	Observed Value μIU/mL	% Recovery
Neat	–	10.56	–
50%	5.28	5.58	105.7
25%	2.64	2.29	86.6
12.5%	1.32	1.27	95.9

Sample 2	Expected Value μIU/mL	Observed Value μIU/mL	% Recovery
Neat	–	9.26	–
50%	4.63	5.18	111.8
25%	2.32	2.04	88.2
12.5%	1.16	1.19	102.9

Sample 3	Expected Value μIU/mL	Observed Value μIU/mL	% Recovery
Neat	–	11.25	–
50%	5.63	5.06	89.9
25%	2.81	3.01	106.9
12.5%	1.41	1.44	102.1

Method Comparison

Clinical samples (n= 96 obtained as frozen plasma samples through outside laboratories) were used to compare the plasma values obtained using the FastPack® IP and FastPack® TSH method and the plasma values obtained using the Abbott IMx Ultrasensitive hTSH II method. The values were evaluated for agreement using linear regression analysis, with the associated correlation coefficient.

n	Range of Observation (μIU/mL)	Intercept (μIU/mL)	Slope	r
96	0.03 to 87.99	0.83	1.03	0.97

INTERFERING SUBSTANCES

Interfering substances were added to plasma samples containing known amounts of TSH. The value obtained for the plasma with each interfering substance was compared to the value obtained for the plasma without the interfering substance. These compounds did not show interference at the levels indicated.

Sample TSH Concentration (μIU/mL)	Interfering Substance	Concentration, Interfering Substance	% Interference
1.85	Bilirubin	40 mg/dL	> 5
1.63	Hemoglobin	1,000 mg/dL	> 5
1.63	Triglycerides	1,000 mg/dL	> 10

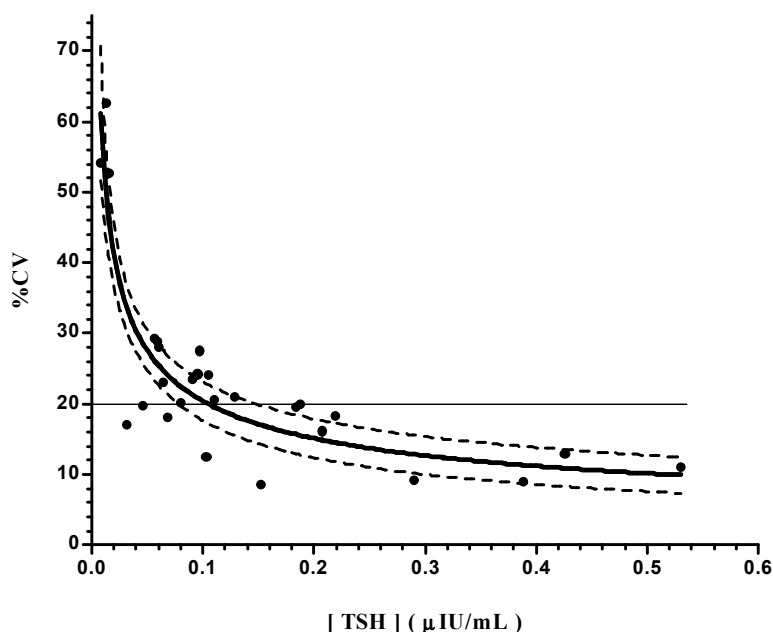
Functional Sensitivity

Functional sensitivity is defined as the concentration of hTSH that can be measured with an inter-assay CV of 20%^{9,10}.

The functional sensitivity of the FastPack[®] IP and FastPack[®] hTSH Immunoassay was determined by testing samples (human plasma samples, TSH Standards in protein-buffered solution, or blended human plasma samples) in the range of 0.013 $\mu\text{IU/mL}$ to 0.53 $\mu\text{IU/mL}$. Over a five-day period, samples were run in triplicate on two analyzers. The inter-assay %CV was determined using the pooled data. A precision profile was graphed using the inter-assay %CV for each sample. A curve was fit through all the data points with the 95% confidence intervals (with an observed mean of 0.10 $\mu\text{IU/mL}$).

The functional sensitivity of the FastPack[®] IP and FastPack[®] hTSH Immunoassay is 0.13 $\mu\text{IU/mL}$ with 95% confidence where the inter-assay precision has a 20% CV.

PRECISION PROFILE



Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity of TSH is 0.04 $\mu\text{IU/mL}$. This value was interpolated from the dose-response curve that was plus two standard deviations above the average of the zero calibrator signal ($n > 10/\text{analyzer}/\text{lot}$).

Specificity

TSH-stripped plasma was spiked with different concentrations of hCG, FSH, and LH to determine if these materials gave a positive TSH signal in the assay. Cross-reactivity of the antibody used in the FastPack[®] IP and FastPack[®] TSH assay was shown to be not detectable for hCG, LH, and FSH tested at 200,000, 500 and 500 mIU/mL, respectively.

REFERENCES

- ¹ Braverman, LE, Utigen, RD, Eds: Werner and Ingbar's The Thyroid. A Fundamental and Clinical Text. 7th ed., Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996.
- ² Burtis, CA, Ashwood, ER, Eds: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed., New York, WB Saunders Company, p. 1492, 1999.
- ³ Larsen, PR: Thyroid-pituitary interaction. N. Engl. J. Med., 306:23-32, 1982.
- ⁴ Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition: H3-A5: 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)
- ⁵ Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2; 19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ⁶ Schroff, RJ, Foon, KA, *et.al*: Human anti-mouse immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res, 45:879 – 885, 1985
- ⁷ Jackson, IM: Thyrotropin-releasing hormone. N. Engl. J. Med., 306: 145-155, 1982.
- ⁸ Pierce, JG: Subunits of Pituitary Thyrotropin. Their relationship to other glycoprotein hormones. Endocrinology, 89: 1331-1344, 1971.
- ⁹ Nicoloff JT, Spencer CA: The use and misuse of the sensitivity thyrotropin assays. J. Clin. Endocrinology, 71, 553 – 558, 1990.
- ¹⁰ Spencer CA: Thyroid profiling for the 1990's: free T4 estimate or sensitive TSH measurement. J. Clin Immunoassay, 12, 82 – 89, 1989.



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 USA
Technical Support
(760) 918-9165
(877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Germany



© 2000 Qualigen, Inc. All rights reserved. Qualigen and FastPack are trademarks or registered trademarks of Qualigen, Inc.
All other trademarks are the property of their respective owners.

Für die quantitative Messung von Thyreoideastimulierenden Hormons (Thyreotropin, TSH) in menschlichem Plasma

Die Konzentration von Thyreoideastimulierenden Hormons (Thyreotropin, TSH) in ein und derselben Probe, die mit Assays verschiedener Hersteller ermittelt wurde, kann infolge unterschiedlicher Assaymethoden und Reagenzienspezifität variieren. Die vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnisse müssen daher einen Hinweis auf die verwendete TSH-Assaymethode enthalten. Mit unterschiedlichen Assaymethoden erhaltene Werte können nicht austauschbar verwendet werden.

VORSICHT: Der Verkauf dieses Artikels ist gesetzlich nur an Ärzte oder im Auftrag eines Arztes bzw. nur an klinische Labors zugelassen. Der Gebrauch ist nur durch einen Arzt oder im Auftrag eines Arztes zulässig.

VERWENDUNGSZWECK

FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay ist ein Immunoassay mit paramagnetischen Partikeln zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von Thyreoideastimulierenden Hormons (Thyreotropin, TSH) in menschlichem Plasma. Der FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay ist zur Verwendung mit dem FastPack® IP System vorgesehen.

ÜBERSICHT

Die Beziehung von TSH und den Schilddrüsenhormonen (T3, T4) deckt den größten Teil der Fälle von Schilddrüsenproblemen ab. Dennoch werden Variationen dieser Beziehungen in der klinischen Praxis beobachtet. Das Thyreoidea-stimulierende Hormon (Thyreotropin, TSH) wird in der Hypophyse gebildet^{1,2}. TSH stimuliert die Synthese und Sekretion des Thyroxins (T4) und des Trijodthyronins (T3)³. T3 und T4 üben eine allgemeine Kontrolle auf der Ebene der metabolischen Aktivität auf viele andere Organsysteme im Körper aus.

Die Synthese und Freisetzung von TSH wird durch Thyreotropin-Releasing-Hormon (TRH) stimuliert⁷. Dieses Hormon ist ein Tripeptid, das vom Hypothalamus produziert wird und über besondere Gefäße direkt in den Hypophysenvorderlappen gelangt. Die Stimulation der Sekretion durch TRH ist der negativen Rückkopplung durch die Schilddrüsenhormone Trijodthyronin (T3 und Thyroxin (T4) untergeordnet. Zielorgan des TSH ist die Schilddrüse. TSH stimuliert die Synthese und Sekretion des Thyroxins (T4) und des Trijodthyronins (T3). Die Möglichkeit von Immunoassays, TSH in allen Kategorien von Schilddrüsenerkrankungen zu messen, hat zu deren erhöhtem Einsatz als Firstline-Test der Schilddrüsenfunktion in der klinischen Praxis geführt^{9,10}.

Menschlicher Thyreoidea-stimulierende Hormon (hTSH) ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von etwa 28.000 Dalton und wird in der Hypophysenvorderlappen gebildet. TSH setzt sich aus zwei Untereinheiten zusammen, der α - und der β -Kette^{2,8}. Die α -Untereinheit besteht aus 89 Aminosäuren und ähnelt in ihrer Struktur sehr den α -Ketten von LH und FSH. Die α -Kette von hCG ist auch sehr ähnlich, enthält aber 92 Aminosäuren. Die β -Untereinheiten verleihen dem Gesamt-Molekül die unterschiedliche biologische und immunologische Spezifität. Keine der Untereinheiten ist für sich allein aktiv^{2,8}.

Bei dem FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay handelt es sich um ein Chemolumineszenzassay nach dem Sandwich-Prinzip: die Antikörper binden an unterschiedliche Epitope des TSH-Moleküls und bilden einen Antigen-Antikörper-„Sandwich“-Komplex. Dem Reaktionsgemisch wird eine Lösung aus streptavidin-beschichteten paramagnetischen Partikeln (feste Phase) zugefügt. Nach der Entfernung der ungebundenen Stoffe wird chemoluminogenes Substrat zugefügt. Die Menge des TSH-gebundenen markierten Antikörpers verhält sich direkt proportional zur Konzentration an TSH in der Probe.

TESTPRINZIP

Bei dem FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay handelt es sich um ein Chemolumineszenzassay nach dem Sandwich-Prinzip.

- Primärinkubation: Probe, Kontrolle bzw. Kalibrator [100 μ L] und Antikörperlösung (Gemisch aus biotinyliertem monoklonalem TSH-spezifischem Antikörper und einem mit alkalischer Phosphatase markiertem, monoklonalen TSH-spezifischen Antikörper) [100 μ L] reagieren miteinander und bilden dabei einen Sandwich-Komplex.
- Sekundärinkubation: Dem Reaktionsgemisch wird eine Lösung aus streptavidin-beschichteten paramagnetischen Partikeln (feste Phase) zugefügt. Während der Inkubation wird der Sandwich-Komplex durch die Reaktion zwischen dem Biotin und Streptavidin an die feste Phase gebunden.
- Entfernung der ungebundenen Stoffe: Zur Entfernung der ungebundenen Stoffe werden die paramagnetischen Partikel mit Waschlösung [0,2 mL/Waschlösung] gewaschen.
- Substratzugabe und Nachweis: Dem an die Festphase gebundenen Komplex wird chemoluminogenes Substrat [140 μ L] zugefügt, wodurch Chemolumineszenz entsteht, die mit dem FastPack® IP Analyzer gemessen wird.
- Die Menge des gebundenen markierten Antikörpers verhält sich direkt proportional zur Konzentration an TSH in der Probe.

REAGENZIEN – Inhalt und Konzentration

Jeder FastPack[®] IP-Karton enthält:

- 30 FastPacks

Jeder FastPack[®]-Karton enthält:

- 50 FastPacks

Jeder FastPack[®] IP oder FastPack[®] enthält:

- Paramagnetische Partikel, 150 µL
Streptavidin-beschichtete paramagnetische Partikel in Puffer mit 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel.
- TSH-Antikörperlösung, 100 µL
Antikörperlösung mit monoklonalem Mäuse TSH-Antikörper gekoppelt an mit Biotin und alkalischer Phosphatase markierten monoklonalen Mäuse TSH-Antikörper in einer Proteinmatrix, welche einen Zusatz von Proclin[®] 150 als Konservierungsmittel enthält.
- Waschpuffer, 2,0 mL
Oberflächenaktive Substanzen mit Tris-Puffer.
- Substrat, 140 µL
ImmuGlow[™]: Indoxy-3-Phosphat und Lucigenin in Puffer mit Konservierungsstoffen.

Erforderliche Materialien, die nicht im Lieferumfang inbegriffen sind

- FastPack[®] IP System
- TSH FastPack[®] Kalibrator-Kit – Kat.-Nr. 25000022
- FastPack[®] TSH-Kontroll-Kit – Kat.-Nr. 25000025

WARNUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

- **Nur zur In-vitro-Diagnostik.**
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den betreffenden Arbeitszonen weder essen, trinken noch rauchen.
- Hände nach dem Umgang mit Proben gründlich waschen.
- HAMA-Interferenz: Einige Personen besitzen Antikörper zu Mausproteinen (HAMA), was zu Interferenz in Immunoassays führen kann, welche von Mäusen gewonnene Antikörper verwenden. Insbesondere ist bekannt, dass Serumproben von Patienten, die aus therapeutischen oder diagnostischen Gründen eine Infusion von monoklonalem Antikörper aus Mäusen erhalten haben, zu fehlerhaften Resultaten in solchen Assays führen können.
- Bei vorgeschriebener Lagerung und Handhabung sind FastPack[®] IP und FastPack[®] Reagenzien bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. FastPack[®] IP und FastPack[®] Reagenzien dürfen nicht über das Verfallsdatum hinaus verwendet werden.
- Die gebrauchten FastPack[®] IP und FastPack[®] in einem Sonderbehälter für Bioabfall entsorgen.
- Bestandteile, welche Natriumazid enthalten, sind gemäß einschlägiger Richtlinie der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (EWG) als „Schädlich (Xn)“ eingestuft. Dabei kommen folgende Risiko- (R) und Sicherheitsbestimmungen (S) zur Anwendung:

R28	Sehr giftig beim Verschlucken.
R32	Kontakt mit Säuren führt zu stark toxischer Gasfreigabe.
R50/53	Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben.
S28	Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel ... (vom Hersteller anzugeben).
S45	Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen (wenn möglich, dieses Etikett vorzeigen).
S60	Dieses Produkt und sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen.
S61	Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Besondere Anweisungen einholen/Sicherheitsdatenblatt zu Rate ziehen.

LAGERUNG

Bei 2 – 8 °C lagern.

ENTNAHME UND AUFBEREITUNG DER PROBEN

1. Für den FastPack[®] IP und FastPack[®] TSH-Immunoassay ist Plasma erforderlich.
2. Das National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) erteilt folgende Empfehlungen für die Handhabung, Aufbereitung und Lagerung von Blut.^{4,5}
 - A. Bei der Entnahme von Blutproben sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen bei der Venenpunktion zu beachten.
 - B. Für Plasmaproben:
 - Proben in Lithium-Heparin Röhrchen auffangen.
 - Proben müssen sofort nach der Entnahme durch sanftes Umdrehen gemischt werden.
 - Das Plasma innerhalb von 3 Stunden nach der Entnahme trennen, und dann bei 2 – 8 °C lagern. Plasma von den Zellen trennen und anschließend bei 2 – 8 °C lagern.
 - Proben, die nicht innerhalb von 24 Stunden analysiert werden, müssen beimindestens –20 °C eingefroren werden.

- C. Für optimale Ergebnisse müssen Proben frei von Fibrin, roten Blutzellen oder anderen Partikelstoffen sein.
- D. Proben mit Anzeichen von Trübung und/oder Partikelstoffen sind vor der Verwendung zu zentrifugieren.
- E. Die Proben dürfen keine Blasen aufweisen.

ASSAYVERFAHREN

Zum Gebrauch des FastPack® IP Systems siehe das entsprechende Bedienungshandbuch.

ANALYSEGERÄT

FastPack® IP System

EINZELHEITEN ZUR KALIBRIERUNG

Während des FastPack® IP und FastPack®-Produktionsprozesses generiert Qualigen eine Standardkurve und schreibt diese Informationen in den Barcode jedes FastPack® IP und FastPack® Etiketts, aus dem sie vom FastPack® IP Analyzer während der Testsequenz gelesen werden können. Der FastPack® IP Analyzer muss vom Benutzer kalibriert werden, um sicherzustellen, dass er für die verwendete Charge von FastPacks ordnungsgemäß justiert ist. Für jeden Testtyp, z. B. gesamtes PSA, Testosteron oder TSH, müssen separate Kalibrierungen vorgenommen werden. Die Kalibrierungshäufigkeit ist für jeden Testtyp verschieden. Für den FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay muss der FastPack® IP Analyzer alle 14 Tage oder vor jedem Gebrauch einer neuen Charge von TSH FastPacks kalibriert werden.

Jedes Mal, wenn der Benutzer eine Anfangskalibration für eine bestimmte FastPack® IP und FastPack®-Charge vornimmt oder eine neue Kalibrator-Charge benutzt, müssen zur Kalibrierung 2 FastPacks (Duplikate) analysiert werden. Wird eine Neukalibrierung mit der gleichen Charge von FastPacks und Kalibrator vorgenommen, sind zwei FastPacks erforderlich. Siehe hierzu „Kalibrierung“ im Bedienungshandbuch des FastPack Systems.

Zur Kalibrierung dient das FastPack® TSH-Kalibrator Kit – Kat.-Nr. 25000022.

ERGEBNISSE

Der FastPack® IP Analyzer verwendet die Informationen vom Barcode zum Aufbau einer Suchtabelle von x-y-Werten, welche die Standardkurve darstellen, aus der die Konzentration unbekannter Proben durch lineare Interpolation bestimmt wird.

QUALITÄTSKONTROLLE

Stoffe zur Qualitätskontrolle werden zur Simulation echter Proben verwendet und sind von wesentlicher Bedeutung für die Leistungsüberwachung der Assays. Zu den Arbeitsgrundsätzen jedes guten Labors sollte die Verwendung von Kontrollproben gehören, um zu gewährleisten, dass alle Reagenzien und Protokolle sich einwandfrei verhalten. Siehe das Bedienungshandbuch des FastPack® IP Systems zur Bearbeitung der Kontrollen.

Zur Kontrolle dient das FastPack® TSH-Kontroll Kit – Kat.-Nr. 25000025.

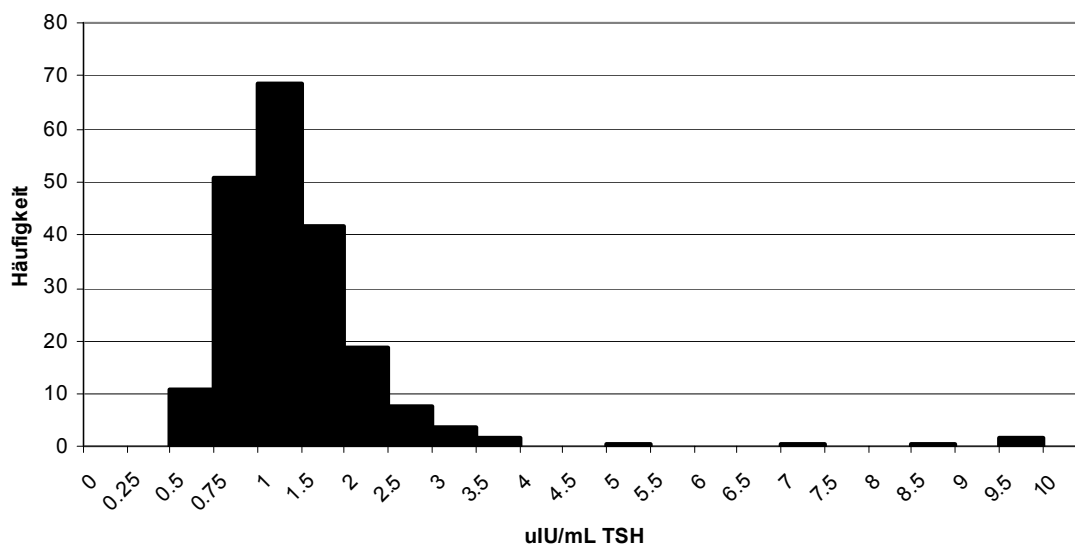
GRENZEN DES VERFAHRENS

- Plasmaproben nur in Lithium-Heparin Röhrchen auffangen.
- Eine exakte Messung der Proben ist innerhalb des messbaren Bereichs der Funktionellempfindlichkeit und des höchsten Kalibrators von 100 µU/mL möglich.
- Proben mit einer Konzentration über 100 µU/mL sollten als „>100 µU/mL“ berichtet werden oder bei Verdünnung mit Kalibrator A bis innerhalb des messbaren Bereichs wieder analysiert werden.
- Keine Hook Effekt Interferenzen bei TSH-Werten bis zu 5000 µU/mL.
- Proben von Patienten, welche aus diagnostischen oder therapeutischen Gründen Präparate aus monoklonalen Antikörpern von Mäusen erhalten haben, enthalten eventuell menschliche Anti-Maus-Antikörper (HAMA). Durch Analyse mit Assay-Kits, die monoklonale Mäuse-Antikörper von Mäusen verwenden, können diese Proben fälschlicherweise erhöhte oder verringerte Werte aufweisen.
- Heterophile Antikörper in Proben können eventuell zu Interferenzen in Immunoassaysystemen führen. In seltenen Fällen können erhöhte TSH-Werte aufgrund von heterophilen Antikörpern im Plasma des Patienten oder infolge unspezifischer Proteinbindung auftreten. Steht der TSH-Wert im Widerspruch zur klinischen Beurteilung, werden zur Untermauerung der Ergebnisse weitere TSH-Test empfohlen.
- Zu Diagnosezwecken sollte der FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay stets zusammen mit der Krankengeschichte, mit klinischen Untersuchungen des Patienten und sonstigen Erkenntnissen herangezogen werden.
- Leistungswerte für frühkindliche (Neonatal) Proben sind nicht festgestellt.

ERWARTETER BEREICH

Proben wurden von 211 zufällig ausgewählten Männern entnommen. Die Proben wurden normalen, gesunden Blutspendern ohne klinisch anormale Anzeichen entnommen. TSH-werte wurden mittels dem FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay zusammen mit dem FastPack® IP Analyser bestimmt, um die TSH-Konzentration in der normalen Bevölkerung zu ermitteln. Der normale Bereich (Zentral 95 Percentile) der FastPack® IP und FastPack® TSH Immunoassay ist 0.66 – 5.45 µIU/mL. Der erwartete Bereich spiegelt die Spenderbevölkerung dieser Studiengruppe wider. Jedes Labor sollte seinen eigenen Referenzbereich entsprechend seiner Bevölkerungssparte ermitteln.

Die Häufigkeitsverteilungskurve der TSH-werte
Auf Qualigen's FastPack® IP System gestützt
(n = 211)



SPEZIFISCHE LEISTUNGSKENNWERTE

Präzision

Die Reproduzierbarkeit des TSH-Assays wurde durch 3 Plasmapoolproben doppelt über zehn Tage unter Verwendung von drei Analyzern und zwei Reagenzienchargen gemessen. Die Präzision wird als Variationskoeffizient (CV) ausgedrückt. Die Werte der benutzten Proben wurden durchgehend des messbaren Bereichs des Assays.

Probe	Anzahl der Proben (N)	Mittelwert (µIU/mL)	Zwischen einzelnen Analyseläufen CV%	Zwischen einzelnen Analyzern CV%	Zwischen einzelnen Reagenzienchargen CV%	GESAMT CV%
1	117	1.54	7.4	0.5	0.3	9.7
2	117	12.39	5.2	1.1	4.8	7.5
3	120	46.30	5.1	5.0	1.1	9.5

Darüber hinaus der obigen Proben, Qualitätskontrollmaterial unter Verwendung von drei Analyzern und zwei Reagenzienchargen wurde gemessen. Die Präzision wird als Variationskoeffizient (CV) ausgedrückt. Die Werte der benutzten Qualitätskontrollproben wurden durchgehend des messbaren Bereichs des Assays.

Probe	Anzahl der Proben (N)	Mittelwert (µIU/mL)	Zwischen einzelnen Analyseläufen CV%	Zwischen einzelnen Analyzern CV%	Zwischen einzelnen Reagenzienchargen CV%	GESAMT CV%
1	48	0.54	13.8	13.3	4.0	20.0
2	48	4.69	6.0	5.8	4.8	7.0

Rückgewinnung bei Spitzenkonzentrationen

Bekannte TSH-Konzentrationen wurde einem normalen Plasmapool zugefügt. Die TSH-Konzentration jeder spitzkonzentrierte Probe wurde mittels dem FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay berechnet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle unten.

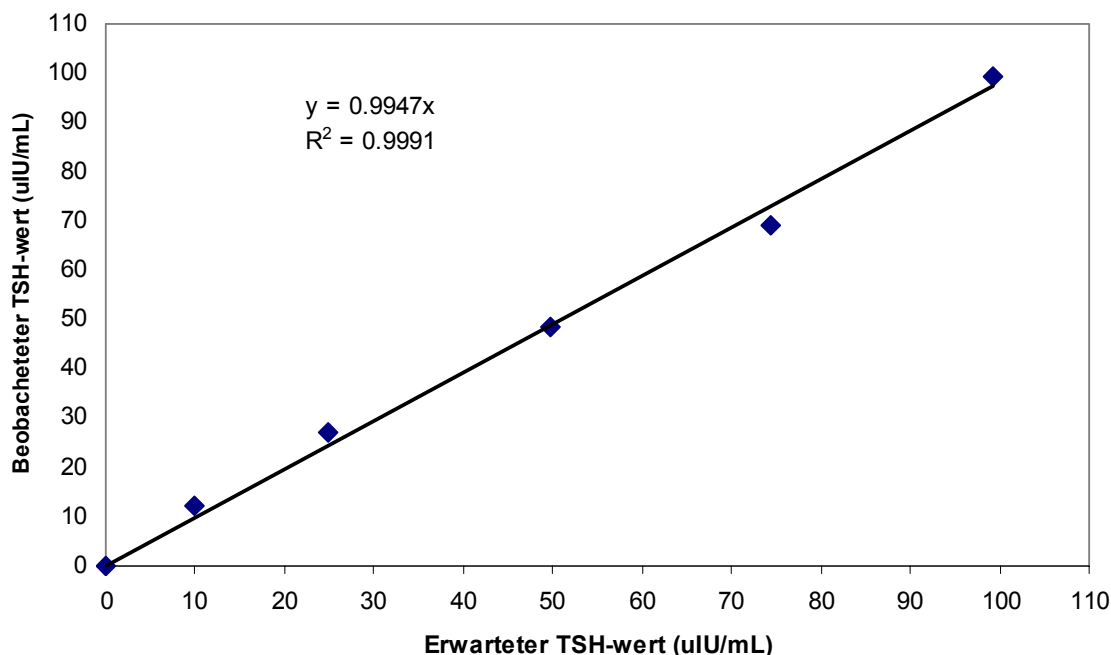
Zugefügtes TSH µIU/mL	Erwarteter TSH-wert µIU/mL	Beobachteter TSH-wert µIU/mL	% Rückgewinnung
0.0	1.58	1.58	100.0
0.5	2.08	2.07	99.8
2.5	4.08	4.37	107.2
5.0	6.58	6.97	105.9
20.0	21.58	20.93	97.0

Linearität

Die Linearität wurde mittels einer Verdünnung einer klinische Humanplasmaprobe von bekannter TSH-Konzentration in einem Trispuffer mit Protein stabilisatoren (Kalibrator A) berechnet. Das FastPack® IP und FastPack® TSH-Immunoassay ist linear über den Messbereich von 0,13 µIU/mL (funktionell Sensitivität) bis 100 µIU/mL. (% Rückgewinnung = Beobachteter TSH-wert/Erwarteter TSH-wert X 100).

Linearitätsprobe Patientenprobe zu Verdünnungsmittel	Erwarteter TSH-wert µIU/mL	Beobachteter TSH-wert µIU/mL	% Rückgewinnung
100%	111.8	111.8	100.0
75%	83.9	80.6	96.1
50%	55.9	58.2	104.1
25%	28.0	28.8	103.0
10%	11.2	11.8	105.0
0%	0.0	0.0	-

Linearität des FastPack® IP und FastPack® TSH Immunoassays



Rückgewinnung bei Verdünnung

Drei Plasmaproben wurden mit TSH-Nullkalibrator auf 50%, 25% und 12,5% verdünnt und die prozentuale Rückgewinnung wurde jeweils berechnet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle unten.

Probe 1	Erwarteter TSH-wert µU/mL	Beobachteter TSH-wert µU/mL	% Rückgewinnung
Neat	-	10.56	-
50%	5.28	5.58	105.7
25%	2.64	2.29	86.6
12.5%	1.32	1.27	95.9

Probe 2	Erwarteter TSH-wert µU/mL	Beobachteter TSH-wert µU/mL	% Rückgewinnung
Neat	-	9.26	-
50%	4.63	5.18	111.8
25%	2.32	2.04	88.2
12.5%	1.16	1.19	102.9

Probe 3	Erwarteter TSH-wert µU/mL	Beobachteter TSH-wert µU/mL	% Rückgewinnung
Neat	-	11.25	-
50%	5.63	5.06	89.9
25%	2.81	3.01	106.9
12.5%	1.41	1.44	102.1

Methodenvergleich

Unter Verwendung von klinischen Proben wurden die anhand der FastPack® IP und FastPack® TSH-methode gewonnenen Plasmawerte mit den anhand der Abbott IMx® Ultrasensitive hTSH II methode ermittelten Plasmawerten verglichen. Die Werte wurden anhand der Linear-Regressionsanalyse mit dem zugehörigen Korrelationskoeffizient auf Übereinstimmung überprüft.

n	Beobachteter Bereich (µU/mL)	Schnittpunkt (µU/mL)	Steigung	r
96	0.03 to 87.99	0.83	1.03	0.97

Störende Substanzen

Störsbstanzten wurden Plasmaproben mit bekanntem Gehalt an TSH hinzugefügt. Der für jedes Plasmaprobe mit Störsbstanz gewonnene Wert wurde mit dem Wert der Plasmaprobe ohne Störsbstanz verglichen. Bei den folgenden Stoffen wurden keine Störeinflüsse bei den angegebenen Konzentrationen festgestellt.

Probe TSH Konzentration (µU/mL)	Prüfstoff	Prüfkonzentration	% Störeinflüsse
1.85	Bilirubin	40 mg/dL	> 5
1.63	Hämoglobin	1,000 mg/dL	> 5
1.63	Triacylglycerine	1,000 mg/dL	> 10

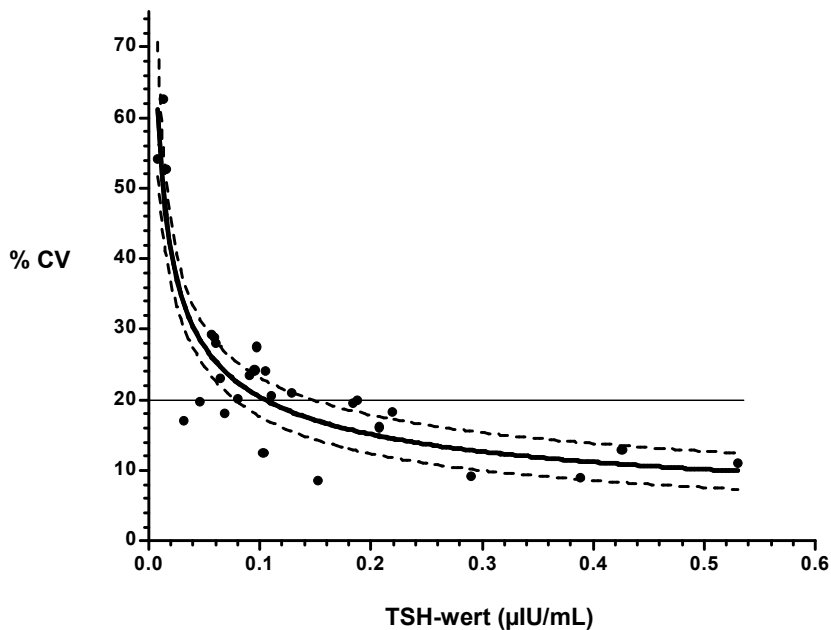
Funktionelle Sensitivität

Die funktionelle Sensitivität ist der TSH-Konzentration der mit Grenzwert des Inter-Assays von 20%^{9,10} gemessen können.

Die funktionelle Sensitivität des TSH-assays wurde durch Proben (Menschliche Plasmaproben, TSH-Standarten mit Proteinstabilisatoren oder gemischt Menschliche Plasmaproben) im Bereich von 0,013 µIU/mL bis 0,53 µIU/mL dreifach über fünf Tage unter Verwendung von zwei Analyzern gemessen. Der Grenzwert des Inter-Assays %CV wurde mittels dieser Probenpools berechnet. Ein Präzisionsprofil wurde mittels das Inter-Assay %CV für jede Probe grafisch dargestellt. Eine Kurve wurde durch alle Datenpunkte mit 95% Konfidenzintervall (Beobachteter Mittelwert von 0,10 µIU/mL) angepasst.

Die funktionell tiefste nachweisbare Menge des FastPack[®] IP und FastPack[®] TSH-Immunoassays wurde als 0,13 µIU/mL (95% Konfidenzintervall, Grenzwert des Inter-Assays; CV = 20%) berechnet.

PRÄZISIONSPROFIL



Analytische Sensitivität

Die Analytische Sensitivität des FastPack[®] IP und FastPack[®] TSH-Immunoassays beträgt 0,04 µIU/mL. Dieser Wert wurde aus der Dosis-Reaktions-Kennlinie interpoliert, die zwei Standardabweichungen über dem Durchschnitt des Nullkalibratorsignals (n > 10/Analyzer/Reagenziencharge) liegt.

Spezifität

Für die verwendeten monoklonalen TSH-Antikörper wurden die folgenden Kreuzreaktivitäten festgestellt: hCG (bis zu 200000 mIU/mL): keine; FSH (bis zu 500 mIU/mL): keine und LH (bis zu 500 mIU/mL) keine.

REFERENZEN

1. Braverman, LE, Utigen, RD, Eds: Werner and Ingbar's The Thyroid. A Fundamental and Clinical Text. 7th ed., Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996.
2. Burtis, CA, Ashwood, ER, Eds: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed., New York, WB Saunders Company, p. 1492, 1999.
3. Larsen, PR: Thyroid-pituitary interaction. N. Engl. J. Med., 306:23-32, 1982.
4. Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition: H3-A5: 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)
5. Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2; 19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
6. Schroff, RJ, Foon, KA, *et.al*: Human anti-mouse immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res, 45:879 – 885, 1985
7. Jackson, IM: Thyrotropin-releasing hormone. N. Engl. J. Med., 306: 145-155, 1982.
8. Pierce, JG: Subunits of Pituitary Thyrotropin. Their relationship to other glycoprotein hormones. Endocrinology, 89: 1331-1344, 1971.
9. Nicoloff JT, Spencer CA: The use and misuse of the sensitivity thyrotropin assays. J. Clin. Endocrinology, 71, 553 – 558, 1990.
10. Spencer CA: Thyroid profiling for the 1990's: free T4 estimate or sensitive TSH measurement. J. Clin Immunoassay, 12, 82 – 89, 1989.



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 USA
Technische Unterstützung:
+1 (760) 918-9165
+1 (877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Deutschland



© 2000 Qualigen, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Qualigen und FastPack sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen von Qualigen, Inc. Alle sonstigen Marken sind Eigentum der jeweiligen Besitzer.