

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 TSH and FastPack® TSH Immunoassay is a paramagnetic particle immunoassay for the *in-vitro* quantitative determination of TSH in human serum and 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 TSH and FastPack® TSH Immunoassay is designed for use with the FastPack® IP System and the FastPack® 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  $\alpha$ -adrenergic receptors to catecholamines<sup>1,2</sup>. Therefore, thyroid dysfunction can have a profound global effect.

A tightly coordinated feedback relationship exists among the thyroid gland, hypothalamus, and pituitary gland<sup>3</sup>. 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 TSH<sup>7</sup>. 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<sup>2, 8</sup>. hTSH is composed of two non-covalently linked subunits designated alpha (  $\alpha$  ) and beta (  $\beta$  ). The  $\alpha$ -subunit of hTSH is common among several other hormones (follicle stimulating hormone, FSH; luteinizing hormone, LH; and human chorionic gonadotropin, hCG), however, the  $\beta$ -subunit is unique, and confers biological as well as immunological specificity. Both the  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunits are required for biological activity<sup>2, 8</sup>.

The FastPack® IP TSH 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 TSH 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  $\mu$ L] reacts with TSH from the patient's sample, control or calibrator [100  $\mu$ 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  $\mu$ L] is added to the solid-phase bound complex and results in "glow" chemiluminescence, which is measured using the FastPack® IP System and FastPack® 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® IP

Each FastPack® carton contains:

- 50 FastPacks

Each FastPack® IP TSH or FastPack® TSH 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 or FastPack® System
- FastPack® TSH Calibrator Kit – Cat. No. 25000024
- FastPack® Control Kit – Cat. No. 25000056(US) or Cat. No. 25000065(International)

## 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 mice<sup>6</sup>.
- FastPack® IP reagents and FastPack® reagents are stable until the expiration date on the label when stored and handled as directed. Do not use FastPack® IP reagents and FastPack® reagents beyond the expiration date.
- Discard used FastPacks into a Biohazard container.
- The components containing sodium azide 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

- Serum and plasma samples can be used for the FastPack® IP TSH and FastPack® TSH Immunoassay.
- The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) provides the following recommendations for handling, processing and storing blood.<sup>4, 5</sup>
  - Collect all blood samples observing routine precautions for venipuncture.
  - 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 °C. 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. TSH in plasma, as measured on the FastPack® IP System and Fastpack® System is stable for up to three freeze/thaw cycles.
  - For serum samples:
    - Collect samples in serum blood collection tubes.
    - Ensure that complete clot formation has occurred before centrifugation. Some specimens may exhibit increased clotting time, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy.
    - Serum should be separated from the clot and centrifuged within 3 hours from time of collection.

- J Remove serum from the cells prior to storage at 2–8 °C.
- J If not tested within 24 hours, the sample should be frozen at –20 °C or colder. TSH in serum, as measured on the FastPack® IP System and FastPack® System is stable for up to three freeze/thaw cycles.
- D. Do not freeze samples (–20 °C) for more than two months.
- E. Samples should be free of red blood cells, or other particulate material for optimal results.
- F. Samples showing turbidity and particulate matter should be centrifuged prior to use.
- G. Ensure the samples are free of bubbles.

## ASSAY PROCEDURE

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

## INSTRUMENTATION

FastPack® IP System or FastPack® 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 or FastPack® System analyzer during the testing sequence. The 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 TSH and FastPack® TSH Immunoassay, the FastPack® IP System and FastPack® 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 the FastPack® IP System Procedure Manual for “Running a Calibration”.

Use FastPack® TSH Calibrator Kit – Cat. No. 25000024

## RESULTS

The FastPack® IP System and FastPack® 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® Control Kit – Cat. No. 25000056(US) or Cat. No 25000065(International)

## LIMITATION OF PROCEDURE

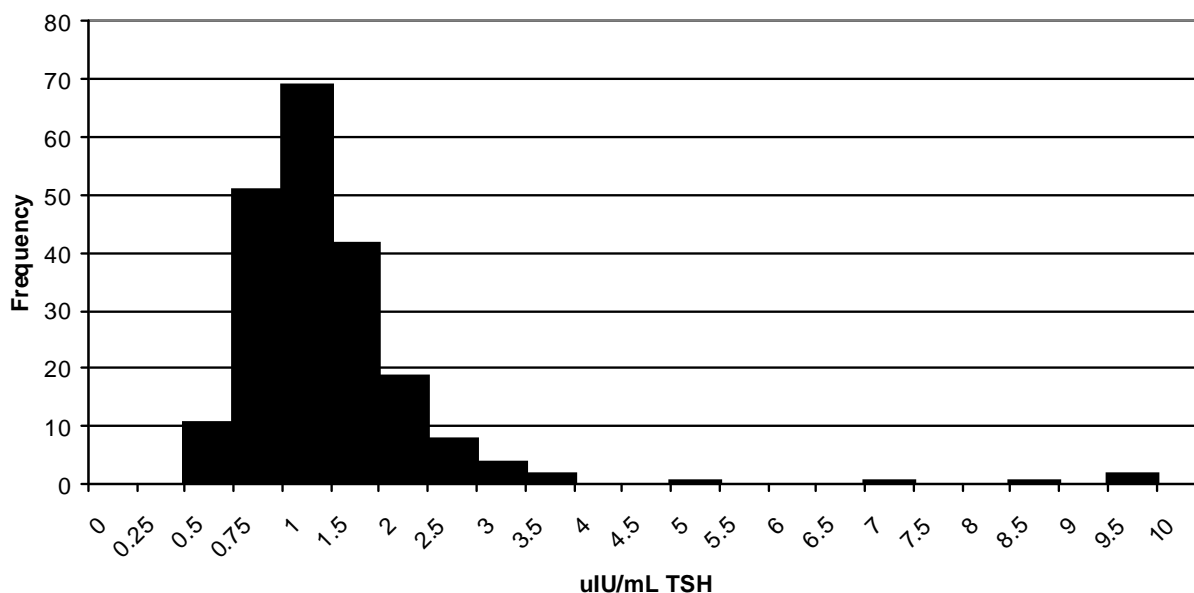
- J Plasma samples to be collected using heparin as the anticoagulant.
- J Specimens can be measured within the reportable range of 0.13 µIU/mL and the upper end of the calibration range, 100 µIU/mL.
- J Samples >100 µIU/mL should be reported as such or re-run using another method. Samples may be diluted using the zero calibrator (Cal A) until within range of the assay.
- J FastPack® IP TSH and FastPack® TSH Immunoassay does not show a high-dose hook effect up to 5,000 µIU/mL.
- J 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.
- J 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.
- J For diagnostic purposes, the FastPack® IP TSH 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 TSH and FastPack® TSH Immunoassay in conjunction with the FastPack® IP System and FastPack® System in order to establish the TSH concentration in the normal population. The normal range (central 95 percentile) for the FastPack® IP TSH and FastPack® TSH Immunoassay is 0.66 – 5.45  $\mu\text{IU/mL}$ . 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 ( $\mu\text{IU/mL}$ )	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 ( $\mu\text{IU/mL}$ )	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

Precision in serum samples was compared to that observed in plasma samples via analysis of matched samples spanning the range of the assay. Precision is expressed as the Coefficient of Variation. The study showed equivalent performance in serum and plasma samples.

Sample Concentration Range	Number of Samples (N)	Plasma CV	Serum CV
0.0 - 1.0 $\mu\text{IU/mL}$	40	6.1%	7.0%
1.0 - 40.0 $\mu\text{IU/mL}$	101	4.4%	4.4%
40.0 - 100.0 $\mu\text{IU/mL}$	32	5.4%	4.0%

## RANGE OF LINEARITY

### Serum

Range of linearity in serum was evaluated following the CLSI EP6-A guideline. For TSH in serum as tested by the FastPack<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH assay, the method has been demonstrated to be linear from 0.11  $\mu\text{IU/mL}$  (limit of detection) to 100  $\mu\text{IU/mL}$  within 5  $\mu\text{IU/mL}$  in this interval.

### Plasma

Range of linearity in plasma was evaluated following the CLSI EP6-A guideline. For TSH in plasma as tested by the FastPack<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH assay, the method has been demonstrated to be linear from 0.08  $\mu\text{IU/mL}$  (limit of detection) to 100  $\mu\text{IU/mL}$  within 5  $\mu\text{IU/mL}$  in this interval.

## METHOD COMPARISONS

### FastPack<sup>®</sup> v. Abbott IMx Ultrasensitive hTSH II

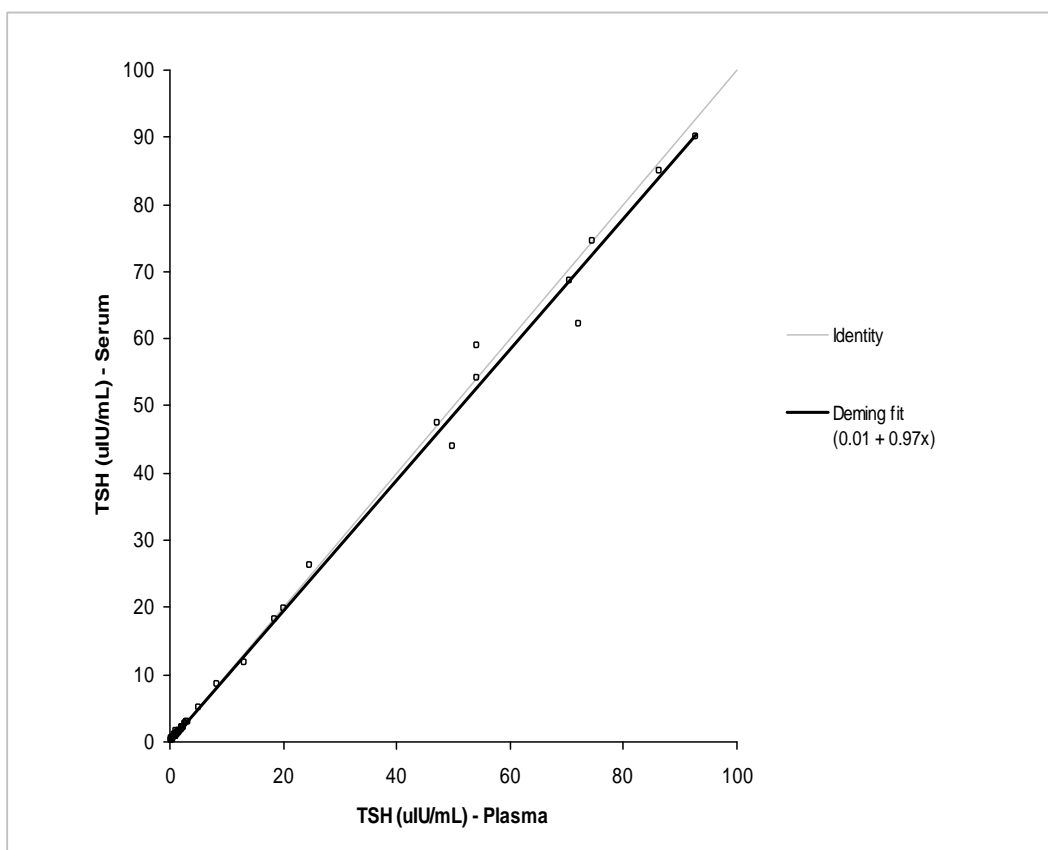
Clinical samples (n= 96 obtained as frozen plasma samples through outside laboratories) were used to compare the plasma values obtained using the FastPack<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH method and the plasma values obtained using the Abbott IMx Ultrasensitive hTSH II method. The values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

n	Range of Observation ( $\mu\text{IU/mL}$ )	Intercept ( $\mu\text{IU/mL}$ )	Slope	R
96	0.03 to 87.99	0.83	1.03	0.97

### FastPack<sup>®</sup> Serum v. FastPack<sup>®</sup> Plasma

Blood collections were obtained from 74 healthy male and female volunteers between the ages of 18 and 60, and these specimens were processed to heparin plasma and serum samples in parallel. The values were evaluated for agreement using Deming regression analysis, with the associated correlation coefficient.

n	Range of Observation ( $\mu\text{IU/mL}$ )	Intercept ( $\mu\text{IU/mL}$ )	Slope	R
74	0.22 – 92.75 (Heparin Plasma)			
74	0.24 – 90.00 (Serum)	0.01	0.97	1.00



### INTERFERING SUBSTANCES

Interfering substances were added to three serum samples and one plasma sample containing known amounts of TSH. The value obtained for the serum or plasma sample with each interfering substance was compared to the value obtained for the serum or plasma without the interfering substance. An acceptance criterion of  $\pm 20\%$  of the value for the serum or plasma sample without added interfering substance was pre-specified for the study. These compounds did not show interference at the levels indicated.

Serum Samples TSH Concentrations ( $\mu\text{IU/mL}$ )	Interfering Substance	Concentration, Interfering Substance	% Interference
1.0, 5.0, 20.0	Bilirubin	40 mg/dL	< 10
1.0, 5.0, 20.0	Hemoglobin	1,000 mg/dL	< 20
1.0, 5.0, 20.0	Triglycerides	1,000 mg/dL	< 5

Plasma Sample TSH Concentration ( $\mu\text{IU/mL}$ )	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

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

Test Compound	Test Concentration
d-Biotin	250 ng/mL

### LIMIT OF BLANK (LOB), LIMIT OF DETECTION (LOD), AND LIMIT OF QUANTITATION (LOQ)

The limit of blank (LOB, the highest measurement likely to be observed for a blank sample), limit of detection (LOD, the lowest amount of analyte in a sample that can be detected with type I and II error rates set to 5%), and limit of quantitation (LOQ, the lowest amount of analyte in a sample that can be reliably detected and at which the total error

meets the pre-specified requirement for accuracy) were determined for serum and plasma according to CLSI EP17-A. In this study, the Limits of Blank for serum and plasma samples were determined from 60 replicate determinations of defibrinated, delipidized, double charcoal filtered serum. Raw RLUs from the assays were converted to apparent  $\mu\text{IU/mL}$  based on the calibration curve for each assay. For each sample type, the LOB was determined as the non-parametric 95<sup>th</sup> percentile of the distribution of values. This value was 0.016  $\mu\text{IU/mL}$  TSH for serum samples and 0.019  $\mu\text{IU/mL}$  TSH for plasma samples.

For serum samples, the LOD was estimated from 60 replicate determinations of three low level serum samples. Based on the Gaussian distributions, LOD was determined by the following equation:

$$\text{LOD} = \text{LOB} + (c_{\beta} \times \text{SD}_s),$$

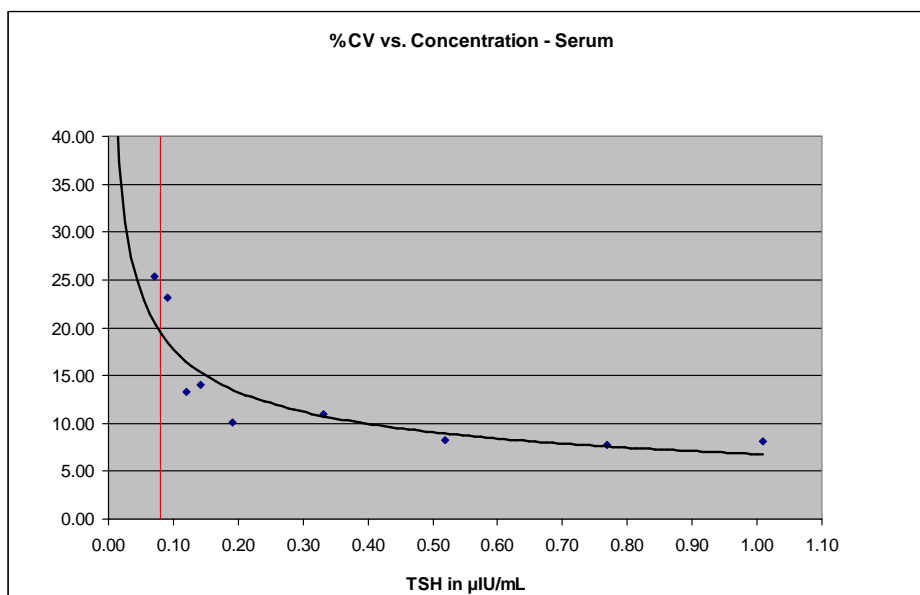
Where  $c_{\beta} = 1.645/(1-(1/(4 \times f)))$ , where  $f$  is the degrees of freedom, and  $\text{SD}_s$  is the standard deviation of the observations. In this study, the LOD was found to be 0.11  $\mu\text{IU/mL}$  TSH.

For plasma samples, the LOD was estimated from 60 replicate determinations of six low level plasma samples. Based on the non-Gaussian distributions, LOD was determined by identification of the lowest sample with values that displayed <5% overlap with blank values. This concentration was determined to be 0.08  $\mu\text{IU/mL}$  TSH.

For the LOQ determination in serum and plasma, the prospectively defined acceptance criteria for accuracy were 80-120% recovery of target value of low level samples and <20% CV. In this study, a serum sample with an assigned value of 0.127  $\mu\text{IU/mL}$  TSH met the acceptance criteria. For plasma, a sample with an assigned value of 0.129  $\mu\text{IU/mL}$  TSH met the acceptance criteria.

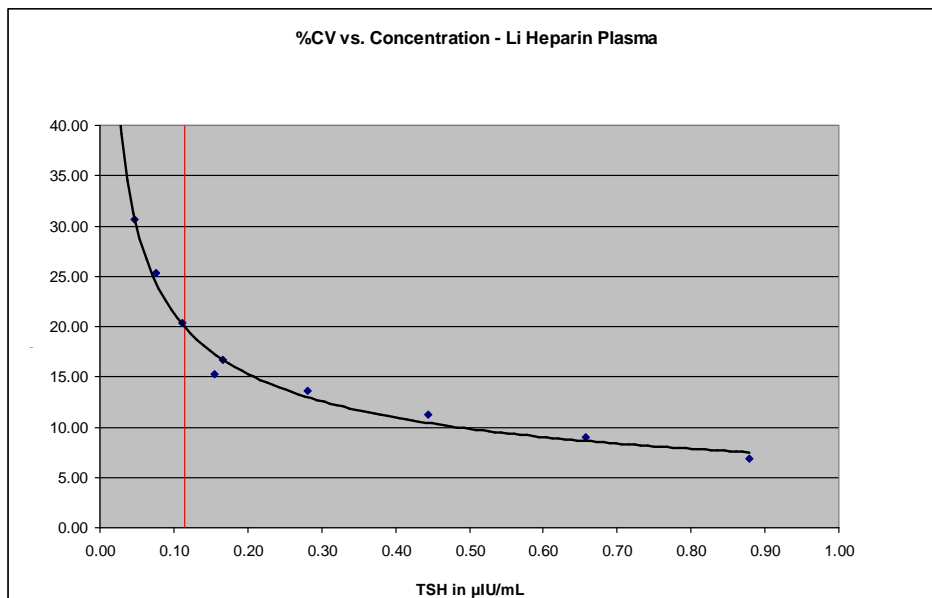
### FUNCTIONAL SENSITIVITY IN SERUM AND HEPARIN PLASMA

Functional sensitivity, defined as the concentration in  $\mu\text{IU/mL}$  TSH at which the assay displays a CV of 20%, was determined both for serum samples and lithium heparin plasma samples. For both methods, the investigation incorporated the preparation of 9 samples in the specified matrix, spanning a range of ~0.05 to 1  $\mu\text{IU/mL}$  TSH, followed by assay of each sample in 30 replicate determinations, (6 replicates/day over 5 days of testing) with one lot of FastPack<sup>®</sup> TSH reagents. Mean, standard deviation (SD), and % CVs were calculated from the replicate determinations. The mean TSH concentration for each sample was then plotted versus % CV and the data fitted via a power function of the form  $Ae^{kx}$ . The concentration at which 20% CV was achieved was then identified from the fitted data. The following chart displays the relationship between mean concentration and % CV. The vertical line in the plot identifies the point at which 20% CV occurs. For the FastPack<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH serum assay, this point occurs at 0.08  $\mu\text{IU/mL}$  TSH. Thus, the functional sensitivity of the FastPack<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH serum assay is estimated to be 0.08  $\mu\text{IU/mL}$  TSH.



### TSH lithium heparin plasma functional sensitivity

The following chart displays the relationship between mean concentration and % CV. The vertical line in the plot identifies the point at which 20% CV occurs. For the FastPack<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH heparin plasma assay, this point occurs at 0.115  $\mu$ IU/mL TSH. Thus, the functional sensitivity of the FastPack<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH heparin plasma assay is estimated to be 0.115  $\mu$ IU/mL TSH.



### SPECIFICITY

#### Serum

Three pools of serum samples were prepared to achieve concentrations of ~ 1, 5, and 20  $\mu$ IU/mL TSH. Each sample was separated into four aliquots and three of these were spiked with hCG, LH, and FSH to concentrations of 200,000, 500 and 500 mIU/mL. Samples were tested along with the unspiked reference in five replicates each on two FastPack<sup>®</sup> instruments using one lot of test packs. Data were analyzed for % difference versus the reference containing no spiked antigens. An acceptance criterion of  $\pm$  20% of the unspiked reference value was pre-specified for the study. In no case, do the spiked antigens alter the recovery by more than 20%.

#### Plasma

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<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH assay was shown to be not detectable for hCG, LH, and FSH tested at 200,000, 500 and 500 mIU/mL, respectively.



## REFERENCES

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

Die Konzentration von thyreoidstimulierendem Hormon (TSH) in einer beliebigen Probe, die durch Assays von verschiedenen Herstellern bestimmt wird, kann sich aufgrund von Unterschieden in den Assaymethoden und individuellen Eigenschaften von Reagenzien unterscheiden. Die Ergebnisse, die vom Labor an den Arzt weitergegeben werden, müssen die Identität der verwendeten TSH-Assaymethode enthalten. Werte, die durch unterschiedliche Assaymethoden erlangt werden, sollten nicht synonym verwendet werden.

**ACHTUNG:** Das US-Bundesgesetz beschränkt dieses Gerät auf den Verkauf oder die Weitergabe durch oder auf Verschreibung eines Arztes oder an ein Krankenhauslabor, und der Gebrauch ist beschränkt auf oder auf Verschreibung eines Arztes.

### VERWENDUNGSZWECK

Das FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Immunoassay ist ein paramagnetisches Partikel-Immunoassay für die in-vitro Mengenbestimmung von TSH in menschlichem Serum oder Plasma. Die Messung des Thyreoidstimulierenden Hormons (TSH), das von der anterioren Hypophyse produziert wird, wird bei der Analyse von Thyreoid- oder Hypophysenstörungen verwendet. Das FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Immunoassay sind für den Gebrauch mit dem FastPack® IP-System und FastPack®-System vorgesehen.

### ZUSAMMENFASSUNG

Thyroidhormone (T4 und T3) haben viele Wirkungen und sind unentbehrlich für Wachstum, Entwicklung und sexuelle Reifung. Zu den Wirkungen gehören die Stimulation der Herzfrequenz und Herzkontraktion, Stimulation der Proteinsynthese und Kohlenhydratmetabolismus, Steigerung der Synthese und Senkung von Cholesterol und Triglyzeriden, Erhöhung der Vitaminanforderungen und Vergrößerung der Empfänglichkeit für Beta-Rezeptoren auf Katecholamine<sup>1,2</sup>. Aus diesem Grund kann eine Schilddrüsenfehlfunktion eine umfassende Wirkung haben.

Zwischen der Schilddrüse, Hypothalamus und Hypophyse besteht eine eng koordinierte gegenseitige Abhängigkeit<sup>3</sup>. Die Systeme dieser Drüsen sind eng miteinander verknüpft und integriert, wodurch das Niveau des Schilddrüsenhormons im Blut geregelt wird. Thyrotropin abgebendes Hormon (TRH), ein Tripeptid, wird im Hypothalamus produziert. TRH wirkt auf die pituitären Thyrotrope, um die Synthese und Freigabe von TSH zu bewirken<sup>7</sup>. TSH kontrolliert schließlich die Synthese und Freigabe von Schilddrüsenhormonen. Ein Anstieg der Schilddrüsenhormonpegel verhindert die pituitäre Reaktion auf TRH. Ein Sinken des Schilddrüsenhormonpegels führt zu einem Anstieg der TRH- und TSH-Ausscheidung. Eine Fehlfunktion der regelnden Produktionspegel von Schilddrüsenhormonen (T4 und T3) führt zu einer Unterproduktion (Hypothyreose) oder Überproduktion (Hyperthyreose). Mit dem Aufkommen von sensiblen Immunoassays ist TSH zu einem der empfohlenen Analyten zur Beurteilung einer vermuteten Schilddrüsenfehlfunktion geworden.

Humanes thyreoidstimulierendes Hormon (hTSH) oder Thyrotropin ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von ca. 28.000 Dalton, das durch die basophilen Zellen (Thyreotrope) des Hypophysenvorderlappens synthetisiert wird<sup>2,8</sup>. hTSH besteht aus zwei nicht-kovalent verknüpften Untereinheiten, die aus Alpha ( ) und Beta ( ) bezeichnet werden. Die -Untereinheit des hTSH ist bei vielen anderen Hormonen verbreitet (Follikel stimulierendes Hormon, FSH, luteinisierendes Hormon, LH, und humanes Choriongonadotropin, hCG), während die -Untereinheit einzigartig ist und sowohl biologische als auch immunologische Spezifität überträgt. Für die biologische Aktivität werden die - und -Untereinheiten benötigt<sup>2,8</sup>.

Das FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Immunoassay basiert auf dem Sandwich-Immunoassayprinzip: TSH in der Probe (Kontrolle oder Patient) wird während der ersten Inkubation wie ein Sandwich zwischen die beiden monoklonalen Antikörper gelegt. Der TSH-Antikörperkomplex wird dann an paramagnetischen Festphasenpartikel gebunden. Nach dem Waschen der Festphase, bei der ungebundene Reagenzien eliminiert werden, wird ein alkalisches Phosphatsubstrat hinzugefügt. Die Menge an Anti-TSH-Antikörpern, die an die paramagnetischen Partikel gebunden ist, ist direkt proportional zum TSH in der Probe.

### TESTPRINZIPIEN

Das FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Immunoassay ist ein Chemilumineszenzassay auf dem Sandwich-Immunoassayprinzip.

- )] Primäre Inkubation: Antikörper-Lösung (eine Mischung aus einem biotinylierten, monoklonalen TSH-spezifischen Antikörper und einem monoklonalen TSH-Antikörper, der mit alkalischer Phosphatase gekennzeichnet ist) [100 µl] reagiert mit TSH aus der Patientenprobe, -kontrolle oder -kalibrator [100 µl].
- )] Sekundäre Inkubation: Mit Streptavidin beschichtete paramagnetische Partikel werden mit der Reaktionsmischung kombiniert. Während dieser Inkubation wird der Sandwich-Komplex durch die Interaktion von Biotin und Streptavidin an die Festphase gebunden.
- )] Entfernung nicht gebundenen Materials: Die paramagnetischen Partikel werden wiederholt mit Wäschepuffer [0,2 ml/Wäsche], herausgespült, um ungebundenes Material zu entfernen.



- J Plasma sollte innerhalb von 3 Stunden nach der Blutentnahme durch Zentrifugieren von den Zellen getrennt und bei 2 – 8 °C gelagert werden. Nehmen Sie das Plasma zur Lagerung aus dem Originalröhrchen.
  - J Wenn die Probe nicht innerhalb von 24 Stunden getestet wird, sollte sich bei -20 °C oder kälter eingefroren werden. TSH in Plasma, wie es auf dem FastPack® IP System und Fastpack® System gemessen wird, ist bis zu drei Einfrier-/Auftauzyklen stabil.
- C. Für Serumproben:
- J Sammeln Sie Proben in Serum Blutentnahmeröhrchen.
  - J Stellen Sie sicher, dass sich vor der Zentrifugation Klumpen vollständig gebildet haben. Bei einigen Proben kann die Klumpenbildung länger dauern, insbesondere bei Patienten, die Gerinnungshemmer oder eine Thrombolyse-therapie erhalten.
  - J Serum sollte innerhalb von 3 Stunden nach der Blutentnahme vom Klümpchen getrennt und zentrifugiert werden.
  - J Entfernen Sie Serum aus den Zellen, bevor es bei 2 – 8 °C gelagert wird.
  - J Wenn die Probe nicht innerhalb von 24 Stunden getestet wird, sollte sich bei -20 °C oder kälter eingefroren werden. TSH in Serum, wie es auf dem FastPack® IP System und Fastpack® System gemessen wird, ist bis zu drei Einfrier-/Auftauzyklen stabil.
- D. Proben dürfen nicht länger als zwei Monate eingefroren (-20 °C) werden.
- E. Proben dürfen keine rote Blutzellen oder andere Partikel enthalten, um optimale Ergebnisse zu erlangen.
- F. Proben, die Trübung und Partikel zeigen, sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden.
- G. Stellen Sie sicher, dass Proben blasenfrei sind.

## ASSAYVERFAHREN

Genauere Anweisungen zum Durchführen von Assays mit dem FastPack® IP-System und FastPack®-System finden Sie im Verfahrenshandbuch des FastPack® IP-Systems.

## INSTRUMENTIERUNG

FastPack® IP System oder FastPack® System

## DETAILS DER KALIBRIERUNG

Während des FastPack® IP und FastPack® Produktionsprozesses erzeugt Qualigen eine Master-Normkurve und speichert diese Informationen im Strichcode auf dem Etikett jedes FastPack® IP und FastPack®, wo sie vom Analysegerät des FastPack® IP-Systems oder FastPack®-Systems während der Testsequenz gelesen werden kann. Das Analysegerät muss vom Benutzer kalibriert werden, um sicherzustellen, dass es richtig auf das entsprechende Los der FastPacks geeicht ist, die verwendet werden. Für jede Art von Test müssen eigene Kalibrierungen durchgeführt werden, d. h. freier PSA, Gesamt-PSA oder Testosteron. Die Häufigkeit der Kalibrierung hängt von jedem Testtyp ab. Für FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Immunoassay muss das Analysegerät des FastPack® IP-Systems und FastPack®-System einmal alle 14 Tage oder dann kalibriert werden, wenn ein neues Los von TSH FastPacks verwendet wird.

Immer wenn der Benutzer eine erste Kalibrierung für ein bestimmtes Los von FastPacks durchführt oder ein neues Los von Kalibratoren verwendet, müssen 2 FastPacks zur Kalibrierung (Duplikate) verwendet werden. Wenn die Kalibrierung ausläuft (14 Tage nach der ersten Kalibrierung) müssen 2 FastPacks zur Kalibrierung verwendet werden. Siehe Verfahrenshandbuch des FastPack® IP-Systems zu „Durchführen einer Kalibrierung“.

Verwenden Sie einen FastPack® TSH Calibration Kit – Kat. Nr. 25000024

## ERGEBNISSE

Das FastPack® IP System und FastPack® System Analysegerät verwendet die Informationen aus dem Strichcode, um eine Lookup-Tabelle mit x-/y-Werten, die die Normkurve darstellen und bestimmt die Konzentration unbekannter Proben durch lineare Interpolation.

## QUALITÄTSSICHERUNG

Qualitätssicherungsmaterialien simulieren echte Proben und sind unerlässlich für die Überwachung der Systemleistung von Assays. Gute Laborpraxis umfasst den Einsatz von Kontrollproben, um sicherzustellen, dass alle Reagenzien und Protokolle korrekt durchgeführt werden. Siehe Verfahrenshandbuch des FastPack® IP-Systems zu „Kontrolltest“. Es sollten mindestens zwei Stufen von Qualitätssicherungsmaterialien verwendet werden.

Anwender sollten immer Bundes-, Landes- und örtliche Richtlinien bezüglich der Durchführung externer Qualitätssicherungen befolgen.

Verfügbare Kontrollen: FastPack® Control Kit – Kat. Nr. 25000065

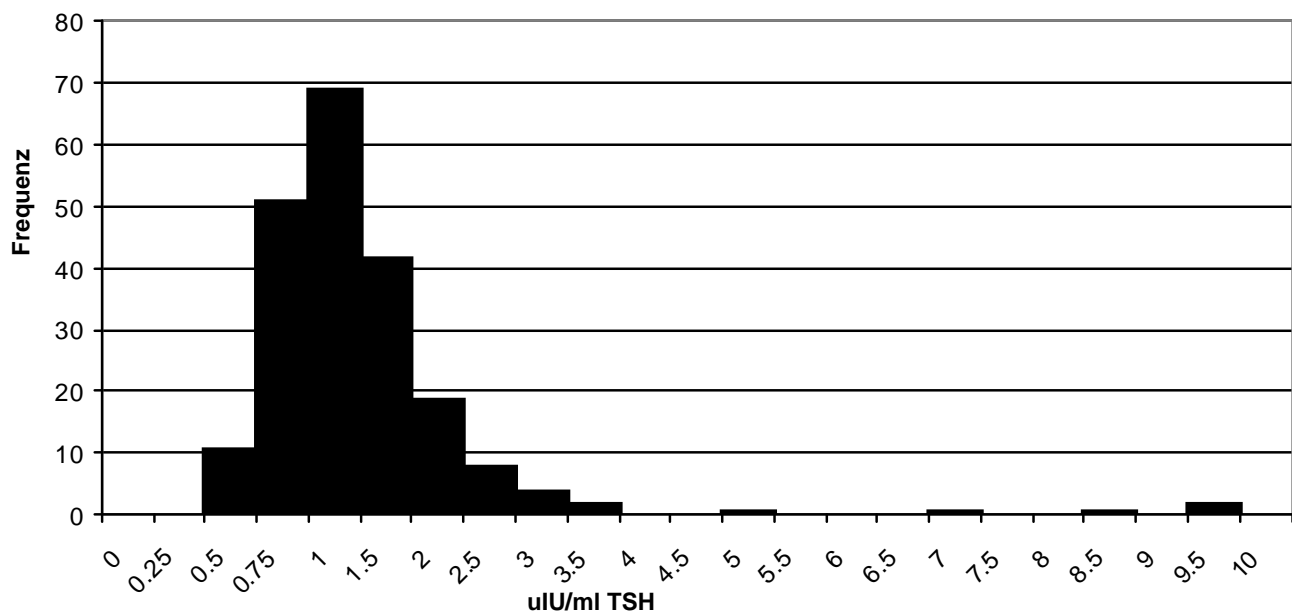
## GRENZEN DES VERFAHRENS

- ] Plasmaproben werden mit Heparin als Antikoagulans entnommen.
- ] Proben können innerhalb des anzeigbaren Bereichs von 0,13 µIU/ml und dem oberen Ende des Kalibrierungsbereichs von 100 µIU/ml gemessen werden.
- ] Proben >100 µIU/ml sollten als solche aufgenommen oder mit einer anderen Methode noch einmal wiederholt werden. Proben können mithilfe des Nullkalibrators (Cal A) verdünnt werden, bis sie im Bereich des Assays liegen.
- ] FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Immunoassay zeigen keinen Hook-Effekt bis zu 5.000 µIU/ml.
- ] Proben von Patienten, die Präparate mit monoklonaren Antikörpern aus Mäusen zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, enthalten eventuell humane anti-Maus-Antikörper (HAMA). Solche Proben zeigen dann eventuell entweder falsch erhöhte oder gesenkte Werte, wenn sie mit Assaysätzen getestet werden, die monoklonale Antikörper der Maus enthalten.
- ] Heterophile Antikörper in einer Probe können Interferenzen in Immunoassay-Systemen verursachen. Ab und zu erscheinen TSH-Werte gesenkt, da heterophile Antikörper in der Probe des Patienten vorhanden sind oder aufgrund von nichtspezifischer Proteinbindung. Ist der TSH-Wert konsistent mit klinischen Beweisen, sollten weitere TSH-Tests durchgeführt werden, um das Ergebnis zu bestätigen.
- ] Zu Diagnosezwecken sollten das Fastpack® IP TSH und FastPack® TSH Immunoassay zusammen mit der Anamnese des Patienten, klinischen Untersuchungen und anderen Befunden beurteilt werden.
- ] Das TSH-Assay wurde noch nicht in patientennahen Situationen beurteilt.
- ] Die Leistung dieses Assays wurde nicht mit neonatalen Proben ermittelt.

## ERWARTETE WERTE

Proben wurden von 211 Personen genommen. Die Proben wurden von offensichtlich gesunden Blutspendern ohne klinisch abnormale Kennzeichen entnommen. TSH-Werte wurden mit FastPack® IP TSH und Fastpack® TSH Immunoassay zusammen mit dem FastPack® IP System und FastPack® System bestimmt, um die TSH-Konzentration bei der normalen Bevölkerung zu ermitteln. Der normale Bereich (zentral 95 Perzentil) für FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Immunoassay liegt bei 0,66 - 5,45 µIU/ml. Der erwartete Bereich spiegelt die Spenderpopulation dieser Studiengruppe wider. Jedes Labor sollte den eigenen Referenzbereich für seine eigene Population bestimmen.

**Frequenzverteilung der TSH-Werte**  
Basierend auf Qualigens FastPack® IP System  
(n=211)



## SPEZIFISCHE LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

### Präzision

Die Reproduzierbarkeit des TSH-Assays wurde durch Tests mit gemischten Plasmaproben in doppelter Ausführung über einen Zeitraum von zehn Tagen mithilfe von drei Analysegeräten und zwei Losen von Reagenzien gemessen. Die Präzision wird als Variationskoeffizient ausgedrückt. Die Proben, die zur Beurteilung der Präzision verwendet wurden, wurden über den linearen Bereich des Assays verteilt.

Probe	Anzahl Proben (N)	Mittel ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Zwischen Durchgängen VK%	Zwischen Analysegerät VK%	Zwischen Reagenzlos VK%	GESAMT VK%
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

Zusätzlich zu den Proben oben wurden Kontrollmaterialien mit drei Analysegeräten und zwei Losen von Reagenzien getestet. Die Präzision wird als Variationskoeffizient ausgedrückt. Die Kontrollproben, die zur Beurteilung der Präzision verwendet wurden, klammern die erwarteten Werte für offensichtlich gesunde Personen ein.

Probe	Anzahl Proben (N)	Mittel ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Zwischen Durchgängen VK%	Zwischen Analysegerät VK%	Zwischen Reagenzlos VK%	GESAMT VK%
1	48	0,54	13,8	13,3	4,0	20,0
2	48	4,69	6,0	5,8	4,8	7,0

Die Präzision bei Serumproben wurde mit der bei Plasmaproben über eine Analyse von passenden Proben verglichen, die den Bereich des Assays umfassen. Die Präzision wird als Variationskoeffizient ausgedrückt. Die Studie zeigte gleichwertige Leistung bei Serum- und Plasmaproben.

Probenkonzentrationsbereich	Anzahl Proben (N)	Plasma VK	Serum VK
0,0 - 1,0 $\mu\text{IU/ml}$	40	6,1%	7,0%
1,0 - 40,0 $\mu\text{IU/ml}$	101	4,4%	4,4%
40,0 - 100,0 $\mu\text{IU/ml}$	32	5,4%	4,0%

## BEREICH DER LINEARITÄT

### Serum

Der Bereich der Linearität bei Serum wurde gemäß der Richtlinie CLSI EP6-A beurteilt. Für TSH in Serum, wie sie durch das FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Assay getestet wurde, hat die Methode eine lineare Funktion von 0,11  $\mu\text{IU/ml}$  (Nachweisgrenze) bis 100  $\mu\text{IU/ml}$  innerhalb von 5  $\mu\text{IU/ml}$  in diesem Intervall demonstriert.

### Plasma

Der Bereich der Linearität bei Plasma wurde gemäß der Richtlinie CLSI EP6-A beurteilt. Für TSH in Plasma, wie sie durch das FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Assay getestet wurde, hat die Methode eine lineare Funktion von 0,08  $\mu\text{IU/ml}$  (Nachweisgrenze) bis 100  $\mu\text{IU/ml}$  innerhalb von 5  $\mu\text{IU/ml}$  in diesem Intervall demonstriert.

## METHODENVERGLEICH

### FastPack® vs. Abbott IMx Ultrasensitive hTSH II

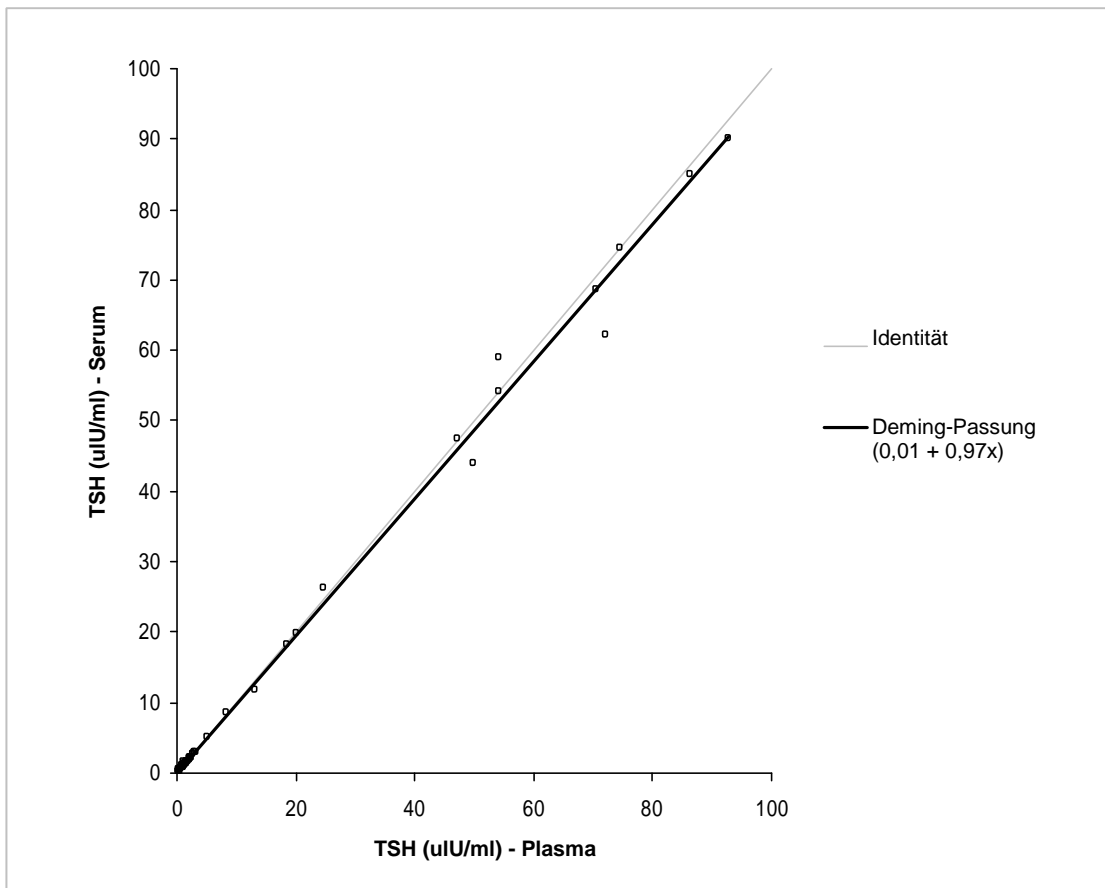
Es wurden klinische Proben (n=96, erhalten als gefrorene Plasmaproben über externe Labors) verwendet, um Plasmawerte, die über FastPack® IP TSH und FastPack® TSH Methode erhalten wurden, mit Plasmawerten zu vergleichen, die mithilfe der Abbott IMx Ultrasensitive hTSH II Methode erhalten wurden. Die Werte wurden mithilfe der linearen Regressionsanalyse mit dem verbundenen Korrelationskoeffizienten auf Übereinstimmung hin beurteilt.

n	Beobachtungsbereich ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Schnittpunkt ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Steigung	R
96	0,03 bis 87,99	0,83	1,03	0,97

### FastPack® Serum vs. FastPack® Plasma

Blutspenden wurden von 74 gesunden männlichen und weiblichen Freiwilligen im Alter zwischen 18 und 60 Jahren gesammelt und diese Proben wurden parallel zu Heparinplasma und Serumproben verarbeitet. Die Werte wurden mithilfe des Deming-Regressionstests mit dem verbundenen Korrelationskoeffizienten auf Übereinstimmung hin beurteilt.

n	Beobachtungsbereich (µIU/ml)	Schnittpunkt (µIU/ml)	Steigung	R
74	0,22 – 92,75 (Heparinplasma)			
74	0,24 – 90,00 (Serum)	0,01	0,97	1,00



## STÖRENDE SUBSTANZEN

Störende Substanzen wurden zu drei Serumproben und einer Plasmaprobe mit bekannten TSH-Mengen hinzugefügt. Der erhaltene Wert für die Serum- oder Plasmaprobe mit jeder störenden Substanz wurde mit dem Wert verglichen, der ohne die störenden Substanzen für das Serum oder Plasma erhalten wurde. Ein Annahmekriterium von  $\pm 20\%$  des Werts für die Serum- oder Plasmaprobe ohne hinzugefügte störende Substanz wurde für die Studie vorher festgelegt. Diese Verbindungen zeigten keine Interferenz bei den angezeigten Stufen.

Serumproben TSH-Konzentrationen ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Störende Substanz	Konzentration störende Substanz	% Interferenz
1,0, 5,0, 20,0	Bilirubin	40 mg/dl	< 10
1,0, 5,0, 20,0	Hämoglobin	1.000 mg/dl	< 20
1,0, 5,0, 20,0	Triglyzeride	1.000 mg/dl	< 5

Plasmaprobe TSH-Konzentration ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Störende Substanz	Konzentration störende Substanz	% Interferenz
1,85	Bilirubin	40 mg/dl	< 5
1,63	Hämoglobin	1.000 mg/dl	< 5
1,63	Triglyzeride	1.000 mg/dl	< 10

Zu den Serumproben, die eine bekannte Menge an TSH enthielten, wurden störende Substanzen hinzugegeben. Der für das Serum mit jeder störenden Substanz erhaltene Wert wurde mit dem erhaltenen Wert für das Serum ohne die störende Substanz verglichen. Diese Verbindungen zeigten bei den angegebenen Spiegeln keine Störung an.

Testverbindung	Testkonzentration
d-Biotin	250 ng/mL

## ERFASSUNGSGRENZE (LOB), NACHWEISGRENZE (LOD) UND BESTIMMUNGSGRENZE (LOQ)

Die Erfassungsgrenze (LOB, die höchste Messung, die für eine leere Probe wahrscheinlich festgestellt wird), Nachweisgrenze (LOD, der niedrigste Analytwert in einer Probe, der mit Fehlerraten Typ I und II auf 5% festgelegt erkannt werden kann) und Bestimmungsgrenze (LOQ, der niedrigste Analytwert in einer Probe, der zuverlässig erkannt werden kann und bei dem der Gesamtfehler die vorher definierte Anforderung für Genauigkeit erfüllt) wurden für Serum und Plasma gemäß CLSI EP 17-A bestimmt. In dieser Studie wurde die Erfassungsgrenze aus 60 Wiederholungsbestimmungen von defibriniertem, entlipidisiertem, doppelt durch Aktivkohle gefiltertem Serum bestimmt. Rohe RLUs aus den Assays wurden in sichtbare  $\mu\text{IU/ml}$  basierend auf der Kalibrierungskurve für jedes Assay konvertiert. Für jeden Probentyp wurde die Erfassungsgrenze als nicht-parametrischer 95. Perzentil der Werteverteilung bestimmt. Dieser Wert war 0,016  $\mu\text{IU/ml}$  TSH für Serumproben und 0,019  $\mu\text{IU/ml}$  TSH für Plasmaproben.

Für Serumproben wurde die Nachweisgrenze aus 60 Wiederholungsbestimmungen mit drei schwachen Serumproben ermittelt. Basierend auf den Normalverteilungen wurde die Nachweisgrenze mithilfe der folgenden Formel bestimmt:

$$\text{LOD} = \text{LOB} + (c_{\beta} \times \text{SD}_s),$$

Wo  $c_{\beta} = 1,645 / (1 - (1 / (4 \times f)))$ , wo  $f$  der Freiheitsgrad und  $\text{SD}_s$  die Standardabweichung der Beobachtungen ist. In dieser Studie lag die gefundene Nachweisgrenze bei 0,11  $\mu\text{IU/ml}$  TSH.

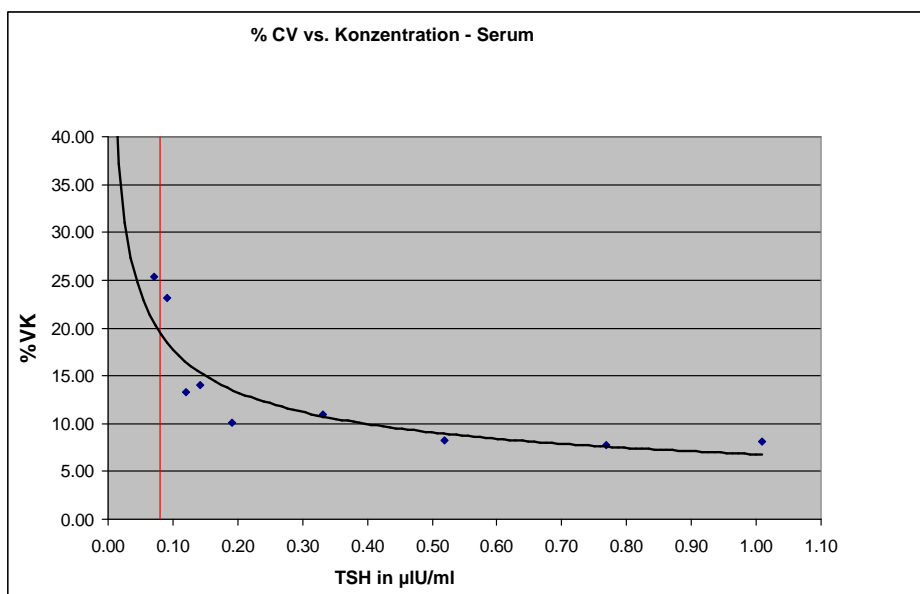
Für Plasmaproben wurde die Nachweisgrenze aus 60 Wiederholungsbestimmungen mit sechs schwachen Plasmaproben ermittelt. Basierend auf den Normalverteilungen wurde die Nachweisgrenze durch die Identifikation der niedrigsten Probe mit Werten bestimmt, die <5% Überlappung mit leeren Werten zeigte. Diese Konzentration wurde mit 0,08  $\mu\text{IU/ml}$  TSH bestimmt.

Für die Bestimmung der LOQ in Serum und Plasma lagen die voraussichtlich definierten Annahmekriterien für Genauigkeit bei 80-120% Erholung vom Zielwert der schwachen Proben und <20% VK. In dieser Studie erfüllte eine Serumprobe mit einem zugewiesenen Wert von 0,127  $\mu\text{IU/ml}$  TSH die Annahmekriterien. Für Plasma erfüllte eine Probe mit einem zugewiesenen Wert von 0,129  $\mu\text{IU/ml}$  TSH die Annahmekriterien.



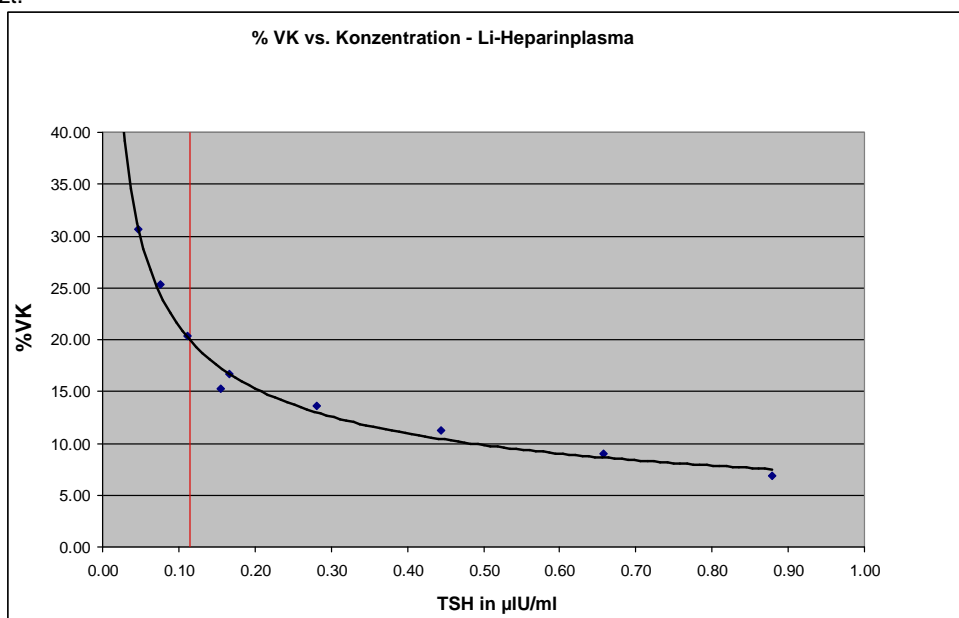
## FUNKTIONSEMPFINDLICHKEIT IN SERUM UND HEPARINPLASMA

Die Funktionsempfindlichkeit, die als Konzentration in  $\mu\text{U/ml}$  TSH definiert ist, bei der das Assay ein VK von 20% angezeigt, wurde für Serumproben und Lithiumheparinplasma proben bestimmt. Für beide Methoden umfasste die Untersuchung die Zubereitung von 9 Proben in der festgelegten Matrix, die einen Bereich von  $\sim 0,05$  bis  $1 \mu\text{U/ml}$  TSH umfasste, gefolgt von einer Assay jedes Probe in 30 Wiederholungsbestimmungen (6 Wiederholungen/Tag über 5 Testtage) mit einem Los FastPack<sup>®</sup> TSH-Reagenzien. Die mittlere Standardabweichung (SA) und % VKs wurden aus den Wiederholungsbestimmungen berechnet. Die mittlere TSH-Konzentration für jede Probe wurde dann gegen % VK dargestellt und die Daten über eine Leistungsfunktion der Formel  $Ae^{kx}$  angepasst. Die Konzentration, bei der 20% VK erreicht wurde, wurde dann aus den angepassten Daten identifiziert. Die folgende Darstellung zeigt die Beziehung zwischen mittlerer Konzentration und % VK. Die vertikale Linie in der Grafik zeigt den Punkt, bei dem 20% VK erreicht wird. Für das FastPack<sup>®</sup> IP TSH und FastPack<sup>®</sup> TSH Serumassay wird dieser Punkt bei  $0,08 \mu\text{U/ml}$  TSH erreicht. Entsprechend wird die Funktionsempfindlichkeit des FastPack<sup>®</sup> IP TSH und FastPack<sup>®</sup> TSH Serumassays auf  $0,08 \mu\text{U/ml}$  TSH geschätzt.



## Funktionsempfindlichkeit in TSH-Lithiumheparinplasma

Die folgende Darstellung zeigt die Beziehung zwischen mittlerer Konzentration und % VK. Die vertikale Linie in der Grafik zeigt den Punkt, bei dem 20% VK erreicht wird. Für das FastPack<sup>®</sup> IP TSH und FastPack<sup>®</sup> TSH Heparinplasmaassay wird dieser Punkt bei  $0,115 \mu\text{U/ml}$  TSH erreicht. Entsprechend wird die Funktionsempfindlichkeit des FastPack<sup>®</sup> IP TSH und FastPack<sup>®</sup> TSH Heparinplasmaassay auf  $0,115 \mu\text{U/ml}$  TSH geschätzt.



## **SPEZIFIZITÄT**

### **Serum**

Drei Pools mit Serumproben wurden zubereitet, um Konzentrationen von ~1, 5 und 20  $\mu\text{IU/ml}$  TSH zu erreichen. Jede Probe wurde in vier Teilproben aufgeteilt, von denen drei mit hCG, LH und FSH mit Konzentrationen von 200.000, 500 und 500  $\mu\text{IU/ml}$  versetzt wurden. Die Proben wurden zusammen mit der nicht versetzten Referenzprobe in fünf Replikaten jeweils auf zwei FastPack<sup>®</sup>-Instrumenten mit einem Los Testpaketen getestet. Die Daten wurden auf %-Unterschied gegenüber der Referenzprobe analysiert, die keine versetzten Antigene enthielt. Ein Annahmekriterium von  $\pm 20\%$  des nicht versetzten Referenzwerts wurde für die Studie vorher festgelegt. In keinem Fall haben die versetzten Antigene die Erholung im mehr als 20% verändert.

### **Plasma**

Von TSH befreites Plasma wurde mit unterschiedlichen Konzentrationen von hCG, FSH und LH versetzt, um zu bestimmen, ob diese Materialien ein positives TSH-Signal im Assay erzeugten. Kreuzreaktivität des Antikörpers, der im FastPack<sup>®</sup> IP TSH and FastPack<sup>®</sup> TSH Assay verwendet wurde, zeigte sich als nicht erkennbar für hCG, LH und FSH, die jeweils bei 200.000, 500 und 500  $\text{mIU/ml}$  getestet wurden.

## REFERENZEN

- <sup>1</sup> Braverman, LE, Utigen, RD, Eds: Werner and Ingbar's The Thyroid. A Fundamental and Clinical Text. 7th ed., Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996.
- <sup>2</sup> Burtis, CA, Ashwood, ER, Eds: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed., New York, WB Saunders Company, p. 1492, 1999.
- <sup>3</sup> Larsen, PR: Thyroid-pituitary interaction. N. Engl. J. Med., 306:23-32, 1982.
- <sup>4</sup> Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5<sup>th</sup> Edition: H3-A5: 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)
- <sup>5</sup> Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2; 19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- <sup>6</sup> Schroff, RJ, Foon, KA, *et.al*: Human anti-mouse immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res, 45:879 – 885, 1985
- <sup>7</sup> Jackson, IM: Thyrotropin-releasing hormone. N. Engl. J. Med., 306: 145-155, 1982.
- <sup>8</sup> Pierce, JG: Subunits of Pituitary Thyrotropin. Their relationship to other glycoprotein hormones. Endocrinology, 89: 1331-1344, 1971.
- <sup>9</sup> Nicoloff JT, Spencer CA: The use and misuse of the sensitivity thyrotropin assays. J. Clin. Endocrinology, 71, 553 – 558, 1990.
- <sup>10</sup> 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  
Technischer Support  
(760) 918-9165  
(877) 709-2169



MDSS  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover  
Deutschland



© Qualigen, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Qualigen und FastPack sind eingetragene Warenzeichen von Qualigen, Inc. Alle anderen Markenzeichen sind Eigentum der jeweiligen Besitzer.

Para la medición cuantitativa de la Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH) en el Suero y Plasma Humanos

**La concentración de TSH en una determinada muestra mediante los análisis de distintos fabricantes puede variar debido a las diferencias en los métodos de análisis y en la especificidad de los reactivos. Los resultados reportados por el laboratorio al médico deben identificar el método de análisis de TSH utilizado. Los valores obtenidos con distintos métodos de análisis no se pueden usar de forma intercambiable.**

**ATENCIÓN:** Las leyes federales de los Estados Unidos restringen la venta y la distribución de este dispositivo a médicos o a laboratorios clínicos y en cuanto al uso del mismo, a médicos o bajo orden médica.

### USO PREVISTO

El Inmunoensayo de FastPack® IP TSH y FastPack® TSH es un Inmunoensayo con partículas paramagnéticas destinado a la determinación cuantitativa *in vitro* de la detección de TSH en el suero y el plasma humanos. Las mediciones de la Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH) que se produce en la pituitaria anterior, son utilizados para la diagnosis de la tiroides o desordenes de la pituitaria. El inmunoensayo de FastPack® IP TSH y FastPack® TSH está diseñado para uso con el Sistema FastPack® IP y el Sistema FastPack®.

### RESUMEN

Las hormonas tiroideas (T4 y T3) tienen muchos efectos y son indispensables para el crecimiento, desarrollo y maduración sexual. Los efectos incluyen la estimulación de la frecuencia cardíaca y la contracción del corazón, la estimulación de la síntesis de proteínas y el metabolismo de los carbohidratos, también influyen en el aumento de la síntesis y la degradación del colesterol y los triglicéridos, así como en el aumento de los requerimientos vitamínicos y el aumento de la sensibilidad de los receptores -adrenérgicos a las catecolaminas<sup>1,2</sup>. Por lo tanto, el mal funcionamiento de la tiroides puede tener un profundo efecto global del cuerpo

Existe una relación de retroalimentación estrechamente coordinada entre la glándula tiroides, el hipotálamo y la glándula pituitaria<sup>3</sup>. Los sistemas de estas glándulas están estrechamente interrelacionados e integrados, siendo como resultado el mantenimiento de los niveles de la hormona tiroidea en la sangre. La hormona liberadora de la tiotropina (TRH), es un tripéptido producido en el hipotálamo. La TRH actúa sobre los tiotropos pituitarios causando la síntesis y liberación de TSH<sup>7</sup>. La TSH a su vez controla la síntesis y liberación de hormonas tiroideas. Un aumento en los niveles de hormona tiroidea inhibe la respuesta de la pituitaria a TRH. Una caída en los niveles de hormona tiroidea provoca un aumento en la secreción de TRH y TSH. Una falla en cualquier nivel regulatorio de la producción de hormonas tiroideas (T4 y T3) resultará en subproducción (hipotiroidismo) o sobreproducción (hipertiroidismo). Con el advenimiento de Inmunoensayos sensibles, la TSH se ha convertido en uno de los analitos recomendados para la evaluación de disfunciones tiroideas sospechosas.

La hormona estimulante tiroidea humana (hTSH) o tiotropina es una glicoproteína con un peso molecular de aproximadamente 28,000 Daltons, y es sintetizada por las células basófilas (tiotropos) de la pituitaria anterior<sup>2, 8</sup>. La hTSH se compone de dos subunidades no covalentemente ligadas designadas como alfa (  $\alpha$  ) Y beta (  $\beta$  ). La subunidad  $\alpha$  de hTSH es común entre varias otras hormonas (hormona folículo estimulante, FSH, hormona luteína, LH y gonadotropina coriónica humana, hCG), sin embargo, la subunidad  $\beta$  es única y confiere especificidad biológica e inmunológica. Las dos subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  son necesarias para la actividad biológica<sup>2, 8</sup>. El Inmunoensayo FastPack® IP TSH y FastPack® TSH se basa en el principio de Inmunoensayo sándwich: la TSH en la muestra (control o paciente) se atrapa entre los dos anticuerpos monoclonales durante la primera incubación. El complejo de TSH-anticuerpo se une entonces a la fase sólida de las partículas paramagnéticas. Después de lavar la fase sólida para eliminar los reactivos no ligados se añade un sustrato de fosfatasa alcalina. La cantidad de anticuerpo anti-TSH marcado unido a las partículas paramagnéticas es directamente proporcional a la concentración de TSH en la muestra.

### PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El Inmunoensayo de TSH FastPack® IP TSH y FastPack® TSH es un análisis de quimioluminiscencia basado en el principio del "sándwich".

- ] Incubación primaria: La solución de anticuerpo (mezcla de un anticuerpo monoclonal biotinilado del TSH con un anticuerpo monoclonal del TSH marcado con fosfatasa alcalina) [100  $\mu$ L] reaccionan con la TSH de la muestra, control o calibrador para formar un complejo en sándwich.
- ] Incubación secundaria: Se añade a la mezcla de la reacción una solución de partículas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina. Durante esta incubación, el complejo en sándwich se liga a la fase sólida por medio de la interacción de la biotina y la estreptavidina.
- ] Eliminación de los materiales no ligados: Las partículas paramagnéticas se lavan con una solución tampón de lavado [0,2 mL/lavado] para eliminar los materiales no ligados.
- ] Adición y detección del sustrato: El sustrato quimioluminogénico [140  $\mu$ L] se añade al complejo ligado a la fase sólida, obteniéndose una quimioluminiscencia de "resplandor" que se mide por medio del Analizador FastPack® IP.
- ] La cantidad de anticuerpo marcado ligado es directamente proporcional a la concentración de TSH en la muestra.

## REACTIVOS – Contenido y concentración

Inmunoensayo de FastPack<sup>®</sup> IP TSH

Cada caja de FastPack<sup>®</sup> IP contiene:

) 30 FastPacks IP

Inmunoensayo de FastPack<sup>®</sup> TSH

Cada caja de FastPack<sup>®</sup> contiene:

) 50 FastPacks

Cada FastPack<sup>®</sup> IP TSH o FastPack<sup>®</sup> TSH Contiene:

) Partículas paramagnéticas, 150 µL

Partículas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina en una solución tampón que contiene el 0,1% de ácido sódico como conservante.

) Solución de anticuerpo de TSH, 100 µL

Solución de anticuerpo, que contiene anticuerpo monoclonal murino anti-TSH acoplado con biotina y anticuerpo monoclonal murino anti-TSH marcado con fosfatasa alcalina en una matriz proteínica que contiene Proclin<sup>®</sup> 150 como conservante.

) Solución tampón de lavado, 2,0 mL

Solución tampón TRIS que contiene agentes tensoactivos.

) Substrato, 140 µL

ImmuGlow<sup>™</sup>: Indoxil-3-fosfato y lucigenina en una solución tampón que contiene agentes conservadores.

*Materiales requeridos pero no provistos*

) Sistema FastPack<sup>®</sup> IP

) Kit calibrador de FastPack<sup>®</sup> TSH – Núm. de catálogo 25000024

) Kit de control TSH FastPack<sup>®</sup> – Núm. de catálogo 25000065

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

) Sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.

) No administrar oralmente con pipeta.

) No comer, beber o fumar en las áreas de trabajo designadas.

) Lavarse muy bien las manos tras manipular la muestra.

) Interferencia de HAMA: algunas personas tienen anticuerpos a las proteínas murinas (HAMA), lo cual puede causar interferencias en los Inmunoensayos que emplean anticuerpos de origen murino. En particular, se ha reportado que las muestras de suero o de plasma de pacientes que han sido sometidos a terapias o procedimientos de diagnóstico que incluyen la infusión de anticuerpo monoclonal murino pueden generar resultados erróneos en dichos análisis.

) Los reactivos de FastPack<sup>®</sup> IP y FastPack<sup>®</sup> son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre y cuando se conserven y se manipulen de conformidad con las instrucciones. No use los reactivos de FastPack<sup>®</sup> IP y FastPack<sup>®</sup> más allá de la fecha de caducidad.

) Deseche los FastPacks usados en un recipiente para productos biológicos peligrosos.

) Los componentes que contienen ácido sódico son clasificados conforme a las directrices correspondientes de la Comunidad Económica Europea (CEE) como: Altamente tóxicos y peligrosos al medio ambiente (T+N). Las siguientes son indicaciones pertinentes sobre el riesgo (R) y la seguridad (S):

R28 Altamente tóxico si se ingiere.

R32 Al contacto con ácidos, libera gases muy tóxicos

R50/53 Altamente tóxico para organismos acuáticos. Puede causar efectos adversos a el ambiente acuático a largo plazo.

S28 Después de contacto con la piel, lavarse inmediatamente con mucha espuma de jabón

S45 En caso de accidente o si no se siente bien, busque ayuda médica inmediatamente (muestre la etiqueta, si es posible).

S60 Este material y su envase deberán ser desechados en contenedores para desechos biológicos.

S61 Evite desechos al medio ambiente. Véase instrucciones especiales / de seguridad en las fichas de datos de seguridad.

## INSTRUCCIONES DE CONSERVACIÓN

Conservarlo a una temperatura de entre 2 y 8° C.

## RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

1. El Inmunoensayo de FastPack<sup>®</sup> IP TSH y FastPack<sup>®</sup> TSH puede usarse para analizar muestras de suero, plasma EDTA o plasma Litio-Heparina.
2. El National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) emite recomendaciones para la manipulación, el procesamiento y la conservación de sangre.<sup>4,5</sup>
  - A. Recolecte todas las muestras de sangre de acuerdo a las precauciones rutinarias de venopunción.
  - B. Para muestras de plasma:
    - ∫ Recolecte las muestras en un tubo heparina (tapa verde).
    - ∫ Inmediatamente después de su recolección, mezcle el tubo por inversión suave.
    - ∫ El plasma debe centrifugarse y separarse dentro de un plazo de 3 horas de su recolección y conservarse a 2–8° C. Antes de conservarse, transfiera el plasma de el tubo original.
    - ∫ Si no se procesa dentro de las 24 horas, la muestra deberá ser congelada a –20° C o inferior.
  - C. Para las muestras de suero:
    - ∫ Recolecte las muestras en un tubo especial para suero.
    - ∫ Asegurarse de que la coagulación sea completa antes de proceder a la centrifugación. Esto tarda aproximadamente 30 minutos. Algunas muestras pueden tener un tiempo de coagulación mayor, particularmente las de pacientes sometidos a terapia anticoagulante o trombolítica
    - ∫ El suero debe centrifugarse y separarse del coágulo dentro de las 3 horas de su recolección
    - ∫ Retire el suero de las células antes de conservarlo a una temperatura de entre 2 y 8°.
    - ∫ Si no se analiza dentro de las 24 horas, la muestra debe congelarse a una temperatura de –20° C o inferior. El TSH en el suero, según se cuantifica en el Sistema FastPack<sup>®</sup> IP y el Sistema FastPack<sup>®</sup> es estable hasta por tres ciclos de congelación / descongelación
  - D. No congelar las muestras (–20° C) por más de dos meses.
  - E. Para óptimos resultados, las muestras deben estar libres de glóbulos rojos o cualquier otro material particulado.
  - F. Las muestras que exhiban turbidez y/o material particulado deben centrifugarse antes de usarlas.
  - G. Asegurarse que las muestras no tengan burbujas.

## PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Vea el Manual de procedimientos del Sistema FastPack<sup>®</sup> IP y del Sistema FastPack<sup>®</sup> IP para obtener información sobre el uso de dicho sistema.

## INSTRUMENTACIÓN

Sistema FastPack<sup>®</sup> IP o Sistema FastPack<sup>®</sup>

## DETALLES DE CALIBRACIÓN

Durante el proceso de producción de FastPack<sup>®</sup> IP TSH y FastPack TSH, Qualigen genera una curva maestra estándar y coloca esta información, en forma de código de barras, en cada etiqueta de FastPack<sup>®</sup> IP TSH y FastPack<sup>®</sup> TSH donde puede ser leída por el analizador FastPack<sup>®</sup> IP durante la secuencia de análisis. El usuario debe calibrar el analizador FastPack<sup>®</sup> IP para asegurarse de que esté bien ajustado para el lote específico de FastPacks que está utilizando. Se deben llevar a cabo calibraciones separadas para cada tipo de análisis, es decir, PSA Libre, PSA Total o Testosterona. La frecuencia de calibración varía para cada tipo de análisis. Para el Inmunoensayo de FastPack<sup>®</sup> IP TSH y FastPack<sup>®</sup> TSH el analizador FastPack<sup>®</sup> IP debe calibrarse una vez cada 14 días, o cada vez que se vaya a utilizar un Nuevo lote de FastPacks de TSH.

Cada vez que el usuario lleva a cabo una calibración inicial para un lote determinado de FastPacks o utiliza un nuevo lote de calibrador, se deben procesar 2 FastPacks para la calibración (duplicados). Cuando la calibración expira (14 días después de la calibración inicial) se realiza la recalibración y tiene que usar 2 FastPacks. Vea “Cómo realizar una calibración” en el Manual de Procedimientos del Sistema FastPack<sup>®</sup> IP.

Use el Kit calibrador de TSH FastPack<sup>®</sup> – Núm. de catálogo 25000024

## RESULTADOS

El analizador FastPack<sup>®</sup> IP utiliza la información del código de barras para construir una tabla de búsqueda de valores (x,y) que representan la curva estándar, y estima la concentración de muestras desconocidas mediante la interpolación lineal.

## CONTROL DE CALIDAD

Los materiales de control de calidad simulan muestras reales y son esenciales para monitorizar el desempeño sistemático de los análisis. Las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) incluyen el uso de muestras de control para asegurar que todos los reactivos y protocolos estén funcionando correctamente. Vea “Cómo ejecutar los controles” en el Manual de Procedimientos del Sistema FastPack<sup>®</sup> IP. Por lo menos dos niveles de material de control de calidad deberá usarse. Los usuarios deberán de seguir las leyes apropiadas federales, estatales y locales sobre el uso de controles de calidad externos.

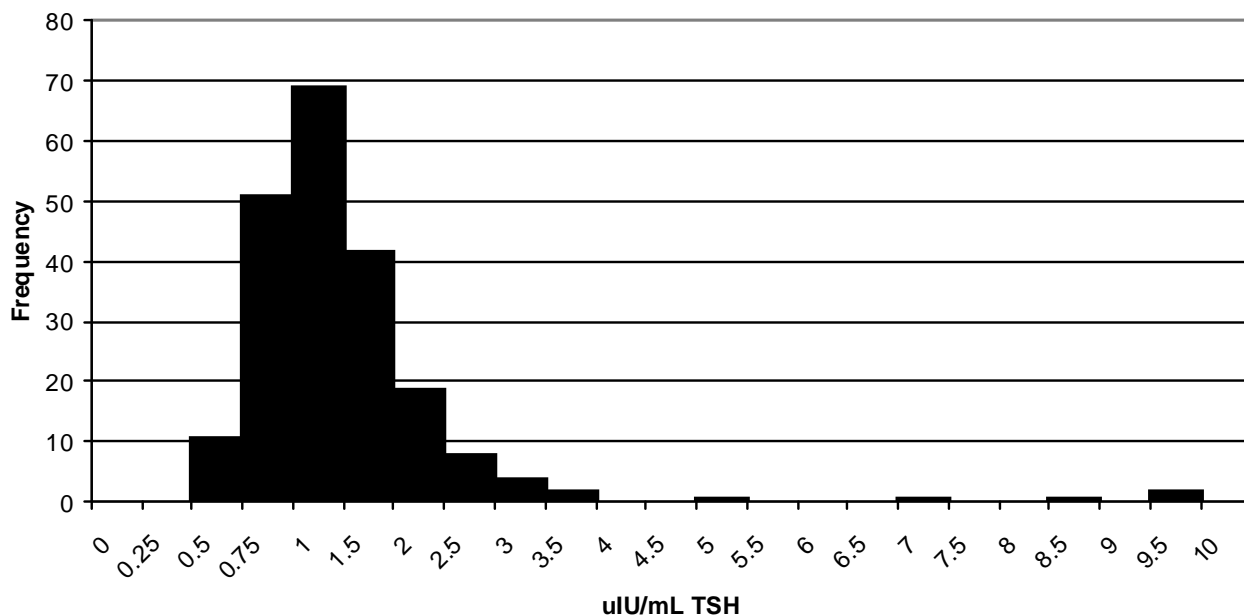
### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- ) Las muestras de plasma deben de recolectarse usando heparina como anticoagulante.
- ) Las muestras pueden medirse con precisión dentro del rango reportable de 0,13 µIU/mL y el calibrador más alto, 100 µIU/mL
- ) Las muestras >100 µIU/mL deben reportarse como tal o ser analizadas de nuevo usando otro método. Las muestras pueden ser diluidas utilizando el Calibrador cero (Cal A) dentro del rango del Inmunoensayo.
- ) El Inmunoensayo FastPack® IP TSH y el FastPack® TSH no muestra efecto de gancho hasta 5,000 µIU/mL.
- ) Las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales murinos con fines diagnósticos o terapéuticos pueden contener anticuerpos humanos antimurinos (HAMA). Dichas muestras pueden indicar valores falsamente elevados o falsamente bajos cuando se analizan con kits de análisis que emplean anticuerpos monoclonales de origen murinos.
- ) Los anticuerpos heterofílicos en una muestra pueden causar interferencia en los sistemas de Inmunoensayos. Infrecuentemente, los niveles de TSH pueden parecer suprimidos debido a los anticuerpos heterofílicos presentes en la muestra del paciente o debido a la ligazón de proteínas no específicas. Si el nivel de TSH es inconsistente con la evidencia clínica, se sugiere pruebas adicionales para confirmar el resultado.
- ) Para propósitos de diagnóstico, el Inmunoensayo de FastPack® IP TSH y FastPack® TSH deberá ser siempre evaluado conjuntamente con la historia médica del paciente, evaluaciones clínicas y cualquier otra información médica relevante.
- ) El Inmunoensayo TSH no ha sido evaluado en entornos de Punto de Cuidado
- ) Esta prueba no ha sido evaluada con especímenes neonatales.

### VALORES ESPERADOS

Se obtuvieron muestras de 211 donadores de sangre aparentemente sanos y sin indicaciones clínicas anormales. Los niveles de TSH se analizaron usando el Inmunoensayo FastPack® IP TSH y el FastPack® TSH en conjunto con los Sistemas FastPack® IP y FastPack® para así establecer la concentración de TSH en la población normal. El rango normal (percentil 95 medio) para el Inmunoensayo de FastPack® IP TSH y FastPack® TSH es de 0,66 a 5,45 µIU/mL. El rango esperado refleja la población de donantes de este grupo de estudio. Cada laboratorio debe determinar su propio rango de referencia apropiado para su población.

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



## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO

### Precisión

La reproducibilidad de la prueba de TSH se midió analizando muestras de un pool de plasma por duplicado para cada muestra durante diez días usando tres analizadores y dos lotes de reactivos. La precisión se expresa como el Coeficiente de Variación. Las muestras utilizadas para evaluar la precisión se distribuyeron a lo largo del intervalo lineal del ensayo.

Muestra	Número de Muestras (N)	Media (µIU/mL)	Entre series CV%	Entre Analizadores CV%	Entre Lotes de Reactivo 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

Además de las muestras anteriores, se analizaron materiales de control utilizando tres analizadores y dos lotes de reactivos. La precisión se expresa como el Coeficiente de Variación. Las muestras de control utilizadas para evaluar la precisión rindieron los siguientes valores esperados para donadores aparentemente sanos.

Muestra	Número de Muestras (N)	Media (µIU/mL)	Entre series CV%	Entre Analizadores CV%	Entre Lotes de Reactivo 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

La precisión en muestras de suero se comparó con la observada en las muestras de plasma mediante el análisis de muestras emparejadas abarcando así el intervalo de la prueba. La precisión se expresa como el Coeficiente de Variación. El estudio mostró un funcionamiento equivalente en muestras de suero y plasma.

Rango de Concentración de la Muestra	Número de Muestras (N)	Plasma %CV	Suero %CV
0,0 – 1,0 µIU/mL	40	6,1%	7,0%
1,0 – 40,0 µIU/mL	101	4,4%	4,4%
40,0 – 100,0 µIU/mL	32	5,4%	4,0%

## RANGO DE LINEALIDAD

### Suero

El rango de linealidad en el suero se evaluó siguiendo la directriz de CLSI EP6-A. Para la TSH en suero, tal como se analizó con el ensayo FastPack® IP TSH y FastPack® TSH, se demostró que el método es lineal desde 0,11 µIU/mL (límite de detección) hasta 100 µIU/mL dentro de 5 µIU/mL en este intervalo.

### Plasma

El rango de linealidad en el plasma se evaluó siguiendo la directriz de CLSI EP6-A. Para la TSH en el plasma, como se analizó con el ensayo FastPack® IP TSH y FastPack® TSH, se demostró que el método es lineal desde 0,08 µIU/mL (límite de detección) hasta 100 µIU/mL dentro de 5 µIU/mL en este intervalo.

## MÉTODO DE COMPARACIÓN

### FastPack® contra Abbott IMx Ultrasensible hTSH II

Se utilizaron muestras clínicas (n = 96 obtenidas como muestras de plasma congeladas a través de laboratorios externos) para comparar los valores obtenidos de muestras de plasma mediante el método FastPack® IP TSH y FastPack® TSH contra los valores obtenidos de muestras de plasma mediante el método Abbott IMx Ultrasensitive hTSH II. Los valores fueron evaluados por congruencia mediante el análisis de regresión lineal con el coeficiente de correlación asociado.

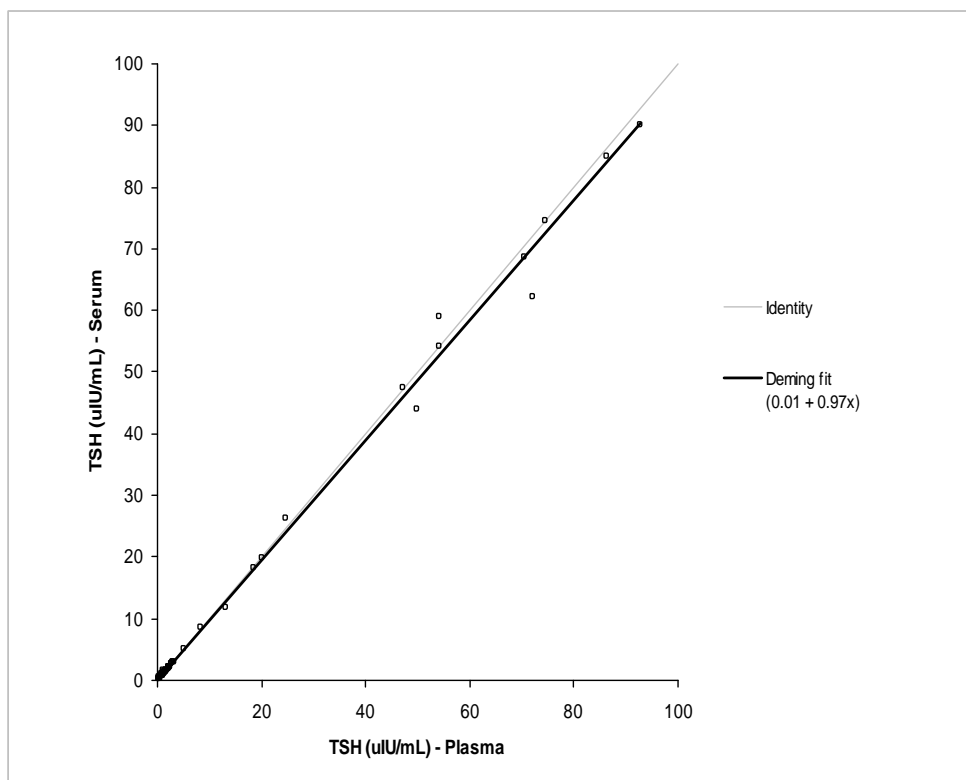
n	Rango de Observación (µIU/mL)	Intersección (µIU/mL)	Pendiente	R
96	0,03 a 87,99	0,83	1,03	0,97



### FastPack® Suero contra Plasma FastPack®

Se obtuvieron recolecciones de sangre de 74 voluntarios masculinos y femeninos, sanos entre las edades de 18 y 60, estos especímenes fueron procesados como plasma heparina conjuntamente con muestras de suero y en paralelo. Los valores fueron evaluados por congruencia mediante el análisis de regresión Deming con el coeficiente de correlación asociado.

n	Rango de Observación (µIU/mL)	Intersección (µIU/mL)	Pendiente	R
74	0,22 – 92,75 (Plasma Heparina)			
74	0,24 – 90,00 (Suero)	0,01	0,97	1,00



### SUSTACIAS INTERFERENTES

Se añadieron sustancias interferentes a tres muestras de suero y a una muestra de plasma conteniendo cantidades conocidas de TSH. El valor obtenido para la muestra de suero o plasma con cada sustancia interferente se comparó con el valor obtenido para el suero o plasma sin la sustancia interferente. Se pre especificó un criterio de aceptación de  $\pm 20\%$  a partir del valor para la muestra de suero o plasma sin la adición de sustancia interferente. Estos compuestos no mostraron interferencia en los niveles indicados.

Concentración de TSH en Suero (µIU/mL)	Sustancia Interferente	Concentración de la Sustancia Interferente	% Interferencia
1,0, 5,0, 20,0	Bilirrubina	40 mg/dL	< 10
1,0, 5,0, 20,0	Hemoglobina	1,000 mg/dL	< 20
1,0, 5,0, 20,0	Triglicéridos	1,000 mg/dL	< 5

Concentración de TSH en Plasma (µIU/mL)	Sustancia Interferente	Concentración de la Sustancia Interferente	% Interferencia
1,85	Bilirrubina	40 mg/dL	< 5
1,63	Hemoglobina	1,000 mg/dL	< 5
1,63	Triglicéridos	1,000 mg/dL	< 10

Se añadieron sustancias interferentes a las muestras de suero que contenían cantidades conocidas de TSH. El valor obtenido para el suero con cada sustancia interferente se comparó con el valor obtenido para el suero sin la sustancia interferente. Estos compuestos no mostraron interferencia en los niveles indicados.

Compuesto de ensayo	Concentración de ensayo
d-Biotina	250 ng/mL

### **LÍMITE DE BLANCO (LOB), LÍMITE DE DETECCIÓN (LOD), Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LOQ)**

El límite de blanco (LOB, la medida más alta que se observara para muestra blanco, el límite de detección (LOD, la cantidad más baja de analito en una muestra que puede ser detectada con tasas de error de tipo I y II fijadas en 5%), el límite de cuantificación (LOQ, la cantidad más baja de analito en una muestra que se puede detectar de forma fiable y en la que el error total cumple el requisito preestablecido de precisión) fueron determinadas para el suero y el plasma según CLSI EP17-A. En este estudio, se determinaron los Límites de Blanco para muestras de suero y plasma a partir de 60 réplicas de suero desfibrilado, delipidado, con tratamiento de carbón doble y filtradas. Los datos primarios de las pruebas se convirtieron en  $\mu\text{IU} / \text{mL}$  aparentes a partir de la curva de calibración para cada prueba. Para cada tipo de muestra, el LOB se determinó como el percentil 95 no paramétrico de la distribución de valores. Este valor fue de  $0,016 \mu\text{IU} / \text{mL}$  de TSH para muestras de suero y de  $0,019 \mu\text{IU} / \text{mL}$  de TSH para muestras de plasma.

Para muestras de suero, el LOD fue estimado a partir 60 réplicas de suero de baja concentración. Basados en las distribuciones Gaussianas, el LOD fue determinado a través de la siguiente ecuación:

$$\text{LOD} = \text{LOB} + (c_{\beta} \times \text{SDs}),$$

Donde  $c_{\beta} = 1,645 / (1 - (1 / (4 \times f)))$ ,  $f$  es el grado de libertad, y  $\text{SDs}$  es la desviación standard de las observaciones.

En este estudio, el LOD fue de  $0,11 \mu\text{IU}/\text{mL}$  TSH.

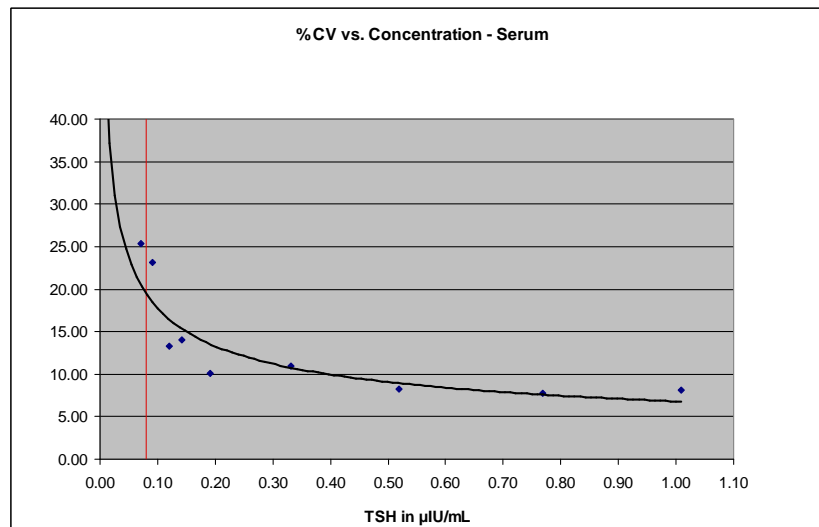
Para muestras de plasma, el LOD fue estimado de 60 réplicas de seis muestras de plasma de nivel bajo.

Basados en la distribuciones Gaussianas, el LOD fue identificado a través de la muestra de nivel más bajo y que presentaron <5% de superposición con los valores del blanco. Esta concentración fue determinada a  $0,08 \mu\text{IU}/\text{mL}$  TSH.

Para la determinación de LOQ en suero y plasma, el criterio de aceptación definidos prospectivamente para la exactitud fue de 80-120% de la recuperación del valor objetivo de muestras de nivel bajo y <20% CV. En este estudio la muestra de suero con el valor asignado de  $0,127 \mu\text{IU}/\text{mL}$  TSH cumple con el criterio de aceptación. Para el plasma, la muestra con el valor asignado de  $0,129 \mu\text{IU}/\text{mL}$  TSH cumple con el criterio de aceptación.

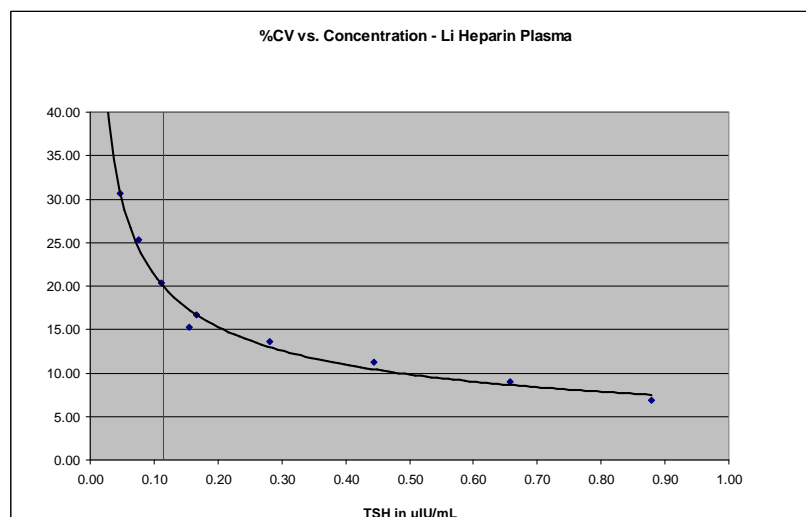
### SENSIBILIDAD FUNCIONAL EN SUERO Y PLASMA HEPARINA

La sensibilidad funcional, definida como la concentración en  $\mu\text{IU}/\text{mL}$  de TSH y en la que el ensayo muestra un CV de 20%, se determinó tanto para muestras de suero como para muestras de plasma de litio heparina. Para ambos métodos, la investigación incorporó preparaciones de 9 muestras en la matriz especificada, abarcando así un intervalo de  $\sim 0,05$  a  $1 \mu\text{IU} / \text{mL}$  de TSH, seguido de pruebas de cada muestra en 30 réplicas, (6 repeticiones/día durante 5 días de pruebas) con un lote de reactivos de TSH FastPack®. La media, la desviación estándar (SD) y el% CV se calcularon a partir de los datos de las réplicas. La concentración media de TSH para cada muestra se graficó contra el % CV y los datos se ajustaron mediante una función de potencia  $Aekx$ . A continuación, se identificó la concentración a la que se alcanzó el 20% CV a partir de los puntos ajustados. La siguiente tabla muestra la relación entre la concentración media y % CV. La línea vertical en la gráfica identifica el punto en el que se produce el 20% CV. Para la prueba de suero de FastPack® IP TSH y FastPack® TSH, este punto se produce a  $0.08 \mu\text{IU} / \text{mL}$  de TSH. Por lo tanto, se estima que la sensibilidad funcional del suero de FastPack® IP TSH y de TSH de FastPack® es de  $0,08 \mu\text{IU} / \text{mL}$  de TSH.



### Sensibilidad Funcional de TSH en plasma litio heparina

La siguiente gráfica muestra la relación entre la concentración media y % CV. La línea vertical de la gráfica identifica el punto en el que se produce el 20% de CV. Para la prueba de plasma heparina FastPack® IP TSH y FastPack® TSH, este punto se produce en  $0,115 \mu\text{IU}$  de TSH. Por lo tanto, se estima que la sensibilidad funcional del TSH de FastPack® IP del ensayo de plasma heparina FastPack® TSH es de  $0,115 \mu\text{IU}/\text{mL}$  de TSH. Por lo tanto, se estima que la sensibilidad funcional del TSH de FastPack® IP del ensayo de plasma heparina FastPack® TSH es de  $0,115 \mu\text{IU}/\text{mL}$  de TSH.



## **ESPECIFICIDAD**

### **Suero**

Se prepararon tres pools de muestras de suero para obtener concentraciones de TSH ~ 1, 5 y 20  $\mu$ IU / mL. Cada muestra se separó en cuatro alícuotas y tres de éstas se le agregaron hCG, LH y FSH a concentraciones de 200.000, 500 y 500 mIU / mL. Las muestras se analizaron junto con la muestra de control no ajustada en cinco réplicas cada una en dos instrumentos FastPack® usando un lote de reactivo. Los datos se analizaron para determinar el porcentaje de diferencia frente a la muestra de control no ajustada. Para el estudio se preespecificó un criterio de aceptación de  $\pm$  20% del valor de la muestra de control no ajustada. En ningún caso, los antígenos añadidos alteraron la recuperación en más del 20%.

### **Plasma**

A una muestra de plasma, a la cual se le extrajo el TSH, le fue añadida diferentes concentraciones de hCG, FSH y LH para determinar si estos materiales producían una señal de TSH positiva en la prueba. Se demostró que la reactividad cruzada del anticuerpo usado en los ensayos de FastPack® IP TSH y FastPack® TSH no es detectable para hCG, LH y FSH que fueron probados a 200.000, 500 y 500 mIU / mL, respectivamente.

## REFERENCIAS

- <sup>1</sup> Braverman, LE, Utigen, RD, Eds: Werner and Ingbar's The Thyroid. A Fundamental and Clinical Text. 7th ed., Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996.
- <sup>2</sup> Burtis, CA, Ashwood, ER, Eds: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed., New York, WB Saunders Company, p. 1492, 1999.
- <sup>3</sup> Larsen, PR: Thyroid-pituitary interaction. N. Engl. J. Med., 306:23-32, 1982.
- <sup>4</sup> Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5<sup>th</sup> Edition: H3-A5: 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)
- <sup>5</sup> Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2; 19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- <sup>6</sup> Schrott, RJ, Foon, KA, *et.al.* Human anti-mouse immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res, 45:879 – 885, 1985
- <sup>7</sup> Jackson, IM: Thyrotropin-releasing hormone. N. Engl. J. Med., 306: 145-155, 1982.
- <sup>8</sup> Pierce, JG: Subunits of Pituitary Thyrotropin. Their relationship to other glycoprotein hormones. Endocrinology, 89: 1331-1344, 1971.
- <sup>9</sup> Nicoloff JT, Spencer CA: The use and misuse of the sensitivity thyrotropin assays. J. Clin. Endocrinology, 71, 553 – 558, 1990.
- <sup>10</sup> 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 EE.UU.  
Soporte Técnico  
+1(760) 918-9165  
+1(877) 709-2169



MDSS  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover  
Alemania



© 2000 Qualigen, Inc. Quedan reservados todos los derechos. Qualigen y FastPack son muestras comerciales o marcas registradas de Qualigen, Inc. Todas las demás marcas son propiedad de sus respectivos propietarios.

Koncentrace hormonu stimulujícího štítnou žlázu (TSH) v daném vzorku určená analýzami různých výrobců se může lišit v důsledku rozdílů v analyzáčních metodách a specifitách činidel. Výsledky oznámené laboratoriem musí zahrnovat identitu použité metody analýzy TSH. Hodnoty získané různými metodami analýzy by neměly být vzájemně srovnávané.

**UPOZORNĚNÍ:** Federální zákony Spojených států omezují prodej a distribuci tohoto prostředku na objednávku lékaře nebo klinické laboratoře a jeho použití je omezeno na lékaře nebo na základě jejich objednávek.

### ZAMÝŠLENÝ ÚČEL

Imunoanalýza FastPack® IP TSH a FastPack® TSH je imunoanalýza paramagnetických částic pro kvantitativní *in vitro* stanovení TSH v lidském séru a plazmě. Měření hormonu stimulujícího štítnou žlázu (TSH) produkovaného přední hypofýzou se používá při diagnostice poruch štítné žlázy a hypofýzy. Imunoanalýza FastPack® IP TSH a FastPack® TSH je navržena pro použití se systémem FastPack® IP a FastPack®.

### SOUHRN

Thyroidní hormony (T4 a T3) mají mnoho účinků a jsou nezbytné pro růst, vývoj a pohlavní dospívání. Účinky zahrnují stimulaci srdečního rytmu a srdečních kontrakcí, stimulaci syntézy bílkovin a metabolismus uhlohydrátů, zvýšení syntézy a rozkladu cholesterolu a triglyceridů, zvýšení příjmu vitamínů a posílení citlivosti  $\alpha$ -adrenergických receptorů na katecholaminy<sup>1,2</sup>. Proto může mít porucha štítné žlázy závažný globální účinek.

Existuje úzce koordinovaná vzájemná vazba mezi štítnou žlázou, hypotalamem a hypofýzou<sup>3</sup>. Systémy těchto žláz jsou těsně vzájemně provázané a integrované, přičemž výsledkem je udržování hladin hormonů štítné žlázy v krvi. Hormon uvolňující tyrotropin (TRH), tripeptid, je vytvářen v hypotalamu. TRH působí na tyrotropy hypofýzy a způsobuje syntézu a uvolnění TSH<sup>7</sup>. TSH naopak reguluje syntézu a uvolnění hormonů štítné žlázy. Zvýšení hladin hormonů štítné žlázy inhibuje reakci hypofýzy na TRH. Pokles hladin hormonů štítné žlázy způsobuje zvýšení sekrece TRH a TSH. Selhání tvorby hormonů štítné žlázy (T4 a T3) na jakékoli úrovni způsobuje nedostatečnou produkci (hypotyreóza) nebo přílišnou produkci (hypertyreóza). S nástupem citlivých imunoanalýz se TSH stal jedním z doporučených analytů pro posouzení podezření na dysfunkci štítné žlázy.

Lidský hormon stimulující štítnou žlázu (hTSH), nebo-li tyrotropin, je glykoprotein s molekulovou hmotností přibližně 28 000 Daltonových jednotek syntetizovaný v bazofilních buňkách (tyrotropy) přední hypofýzy<sup>2,8</sup>. hTSH se skládá ze dvou nekovalentně spojených podjednotek označených alfa ( $\alpha$ ) a beta ( $\beta$ ). Část z hTSH je společná pro několik dalších hormonů (folikuly stimulující hormon, FSH, luteinizační hormon, LH a lidský choriový gonadotropin, hCG), avšak část je jedinečná a vykazuje biologickou i imunologickou specifitu. Pro biologický účinek jsou zapotřebí obě části<sup>2,8</sup>.

Imunoanalýza FastPack® IP TSH a FastPack® TSH je založena na principu nekompetitivní (sendvičové) imunoanalýzy: TSH ve vzorku (kontrolní roztok nebo vzorek pacienta) je uzavřen mezi vrstvy dvou monoklonálních protilátek během první inkubace. Komplex TSH-protilátka je potom navázán na pevné paramagnetické částice. Po promytí pevné fáze pro odstranění nenavázaných činidel je přidán substrát alkalické fosfatázy. Množství značené protilátky anti-TSH navázané na paramagnetické částice přímo úměrně koncentraci TSH ve vzorku.

### ZKUŠEBNÍ PRINCIP

Imunoanalýza FastPack® IP TSH a FastPack® TSH je chemiluminiscenční analýza založena na principu nekompetitivní (sendvičové) analýzy:

- ] Primární inkubace: Roztok protilátky (směs s biotinylovanou monoklonální protilátkou specifickou na TSH a monoklonální protilátkou označenou alkalickou fosfatázou) [100  $\mu$ l] reaguje s TSH ze vzorku pacienta, z kontrolního nebo kalibračního roztoku [100  $\mu$ l].
- ] Sekundární inkubace: Paramagnetické částice se streptavidinovým povrchem jsou kombinovány v reakci směsí. Během této inkubace se „sendvičový“ komplex naváže na pevnou fázi interakcí mezi biotinem a streptavidinem.
- ] Odstranění nenavázaných materiálů: Paramagnetické částice jsou opakovaně opláchnuty promývacím tlumivým roztokem [0,2 ml/promytí] pro odstranění nenavázaných materiálů.
- ] Přidání substrátu a detekce: K pevnému komplexu je přidán chemiluminogenní substrát [140  $\mu$ l] a výsledkem je „zetaletná“ chemiluminiscence, která se měří systémem FastPack® IP a FastPack®.
- ] Množství vázané značené protilátky částice je přímo úměrně koncentraci TSH ve vzorku.

## INIDLA – obsah a koncentrace

Každá krabice FastPack® IP obsahuje:

- 30 ks FastPack® IP

Každá krabice FastPack® obsahuje:

- 50 ks FastPack

Každé balení FastPack® IP TSH nebo FastPack® TSH obsahuje:

- Paramagnetické částice, 150 µl  
Paramagnetické částice pokryté streptavidinem v tlumivém roztoku obsahujícím 0,1 % azid sodný jako konzervační prostředek.
- Roztok protilátky TSH, 100 µl  
Roztok protilátky obsahující směs s biotinylované myši monoklonální protilátky anti-TSH a druhou myši monoklonální protilátku anti-TSH označenou alkalickou fosfatázou v proteinové matici obsahující Proclin® 150 jako konzervační látku.
- Promývací tlumivý roztok, 2,0 ml  
Tlumivý roztok Tris s obsahem tenzidů.
- Substrát, 140 µl  
ImmuGlow™: Indoxyl-3-fosfát a lucigenin v tlumivém roztoku obsahujícím konzervační látku.

Vyžadované materiály, které nejsou součástí sady

- Systém FastPack® IP nebo FastPack®
- Sada kalibračních roztoků FastPack® TSH – kat. číslo 25000024
- Sada kontrolních roztoků FastPack® – kat. číslo 25000065

## VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze pro diagnostiku *in vitro*.
- Nepipetujte ústy.
- Nejezte, nepijte a nekuřte v určené pracovní oblasti.
- Po manipulaci se vzorkem si důkladně umyjte ruce.
- Rušení HAMA: Někteří jedinci mají protilátky pro myši protein (HAMA), které mohou způsobit rušení u imunotestů využívajících protilátku odvozenou od myšičích<sup>6</sup>.
- inidla FastPack® IP a FastPack® jsou stabilní až do data expirace na štítku, pokud jsou uloženy a nakládá se s nimi podle pokynů. Nepoužívejte inidla FastPack® IP a FastPack® po datu expirace.
- Použitý FastPack vyhoďte do nádoby na biologicky nebezpečný materiál.
- Složky obsahující azid sodný jsou příslušnými směrnici Evropské unie (EU) klasifikovány jako: velmi jedovaté a nebezpečné pro životní prostředí (T+ N). Pro azid sodný platí následující rizikové (R) a bezpečnostní (S) vety:
  - R28 Vysoce toxický při požití.
  - R32 Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami.
  - R50/53 Vysoce toxický pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí.
  - S28 Při styku s kůží okamžitě omyjte velkým množstvím mýdlového roztoku.
  - S45 Při pádu nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte toto označení)
  - S60 Tento materiál a jeho obal musí být zneškodněny jako nebezpečný odpad.
  - S61 Zabráňte uvolnění do životního prostředí. Viz speciální pokyny nebo bezpečnostní listy.

## POKyny PRO SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2 – 8 °C.

## ODBER A PŘÍPRAVA VZORKU

- Pro imunotest FastPack® IP TSH a FastPack® TSH lze použít sérové a plazmové vzorky.
- Národní komise pro klinické laboratorní standardy (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) poskytuje doporučení pro zacházení s vzorky a ukládání krve.<sup>4,5</sup>
  - Všechny vzorky krve odebírejte za dodržení běžných bezpečnostních zásad odběru krve.
  - Vzorky plazmy:
    - Odebírejte vzorky do heparinové (zelený uzávěr) zkumavky.
    - Okamžitě po odběru zkumavku promíchejte tak, že ji několikrát šetrně převrátíte.
    - Plazmu je třeba oddělit od buněk odstředivou centrifugací během 3 hodin po odběru a uložit při teplotě 2 – 8 °C. Přeneste plazmu z plazmové zkumavky do skladovací.
    - Pokud není testován během 24 hodin, musí být vzorek zmrazen při –20 °C nebo nižší teplotě. TSH v plazmě není stabilní v systému FastPack® IP a FastPack® je stabilní až po třech cyklech zmrazení/rozmrazení.
  - Sérové vzorky:
    - Odebírejte vzorky do odběrných zkumavek na krev.
    - Před odstředivou centrifugací, že došlo k úplné tvorbě sraženiny. Některé vzorky mohou vykazovat zvýšenou dobu srážení, zejména vzorky od pacientů užívajících antikoagulační nebo trombolytickou léčbu.
    - Sérum by mělo být odděleno od sraženiny a odstředivou centrifugací během 3 hodin po odběru.

- J Pokud uložením oddělte sérum od buněk a uložte při teplotě 2–8 °C.
- J Pokud není testován během 24 hodin, měl by být vzorek zmražen při –20 °C nebo nižší teplotě. TSH v séru měně systémem FastPack® IP a FastPack® je stabilní až po třech cykly zmražení/rozmražení.
- D. Nezmrazujte vzorky (–20 °C) na více než dva měsíce.
- E. Pro dosažení optimálních výsledků by vzorky neměly obsahovat fibrin, červené krvinky nebo jiné částice.
- F. Vzorky vykazující zákal a stopy částicového materiálu je třeba před použitím odstedit.
- G. Zkontrolujte, že vzorky neobsahují bubliny.

## POSTUP ANALÝZY

Další informace o používání systému FastPack® IP a FastPack® naleznete v návodu pro postup pro systém FastPack® IP.

## PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ

Systém FastPack® IP nebo FastPack®

## PODROBNOSTI O KALIBRACI

Během výrobního procesu FastPack® IP a FastPack® připravuje společnost Qualigen hlavní standardní křivku a ukládá tuto informaci na barvý kód na štítku každého FastPack® IP a FastPack®, ze kterého ji načítá analyzátor FastPack® IP v průběhu testovací sekvence. Analyzátor FastPack® IP musí být kalibrován koncovým uživatelem pro zajištění, že je správně nastaven pro konkrétní FastPack, který se používá. Pro každý typ testu je třeba provést samostatnou kalibraci, například celkové PSA, testosteron nebo TSH. Přesnost kalibrace se liší pro každý typ testu. Pro imunoanalýzu FastPack® IP TSH a FastPack® TSH musí být analyzátor FastPack® IP kalibrován jednou za 14 dní nebo před každým použitím nové šarže balení TSH FastPack.

Kdykoli uživatel provádí kalibraci pro konkrétní šarži FastPack nebo využívá novou šarži kalibračních roztoků, je třeba pro kalibraci analyzovat 2 ks FastPack (duplicitně). Když dojde k expiraci kalibrace (14 dní po poslední kalibraci) musí se provést kalibrace se 2 ks FastPack. Viz návod k postupu pro systém FastPack® IP v části „Provádění kalibrace“.

Použijte sadu kalibračních roztoků FastPack® TSH – kat. číslo 25000024

## VÝSLEDKY

Analyzátor systému FastPack® IP a FastPack® využívá informace z barvého kódu pro sestavení tabulky hodnot x a y, které znázorňují standardní křivku, a odhaduje koncentraci neznámého vzorku lineární interpolací.

## KONTROLA KVALITY

Materiály pro kontrolu kvality simulují reálné vzorky a jsou nezbytné pro sledování výkonu systému při analýze. Správná laboratorní praxe (GLP) zahrnuje použití kontrolních vzorků pro zajištění, že jsou všechna činidla a postupy správné. Viz návod k postupu pro systém FastPack® IP v části „Provádění kontrol“. Je třeba použít nejméně dvě úrovně materiálů kontroly kvality.

Uživatelé by měli postupovat podle příslušných federálních, státních a místních pokynů týkajících se provádění externích kontrol kvality.

Dostupné kontrolní roztoky: Sada kontrolních roztoků FastPack® – kat. číslo 25000065

## OMEZENÍ POSTUPU

- J Plazmové vzorky se odebírají za využití heparinu jako antikoagulantu.
- J Vzorky lze měřit ve vykazovaném rozsahu 0,13 µIU/ml až do horního okraje kalibračního rozsahu, 100 µIU/ml.
- J Vzorky >100 µIU/ml je třeba vykázat jako takové, nebo použít jinou metodu. Vzorky mohou být zedny pomocí kalibračního roztoku nulové hodnoty (Cal A) pro dosažení rozsahu analýzy.
- J Imunoanalýza FastPack® IP TSH a FastPack® TSH nevykazuje snížení výsledku při vysokých hodnotách až do 5 000 µIU/ml.
- J Vzorky od pacientů, kteří z diagnostických nebo léčebných důvodů užívali přípravky obsahující myší monoklonální protilátky, mohou obsahovat protilátky proti myším proteinům (HAMA). Takové vzorky mohou vykazovat buď falešně zvýšené, nebo snížené hodnoty při testování analýzou naší sadou používající myší monoklonální protilátky.
- J Heterofilní protilátky ve vzorky mají potenciál způsobit rušení systému imunoanalýzy. Ve vzácných případech se mohou hladiny TSH jevit jako snížené v důsledku heterofilních protilátek přítomných v séru pacienta nebo nespecifického vázání bílkovin. Pokud je hladina TSH nekonzistentní s klinickým nálezem, doporučuje se provést ověření výsledku provést další zkoušení TSH.
- J Pro diagnostické účely by měla být imunoanalýza FastPack® IP TSH a FastPack® TSH vždy posuzována ve spojení se zdravotní anamnézou pacienta, klinickým vyšetřením a dalšími nálezy.



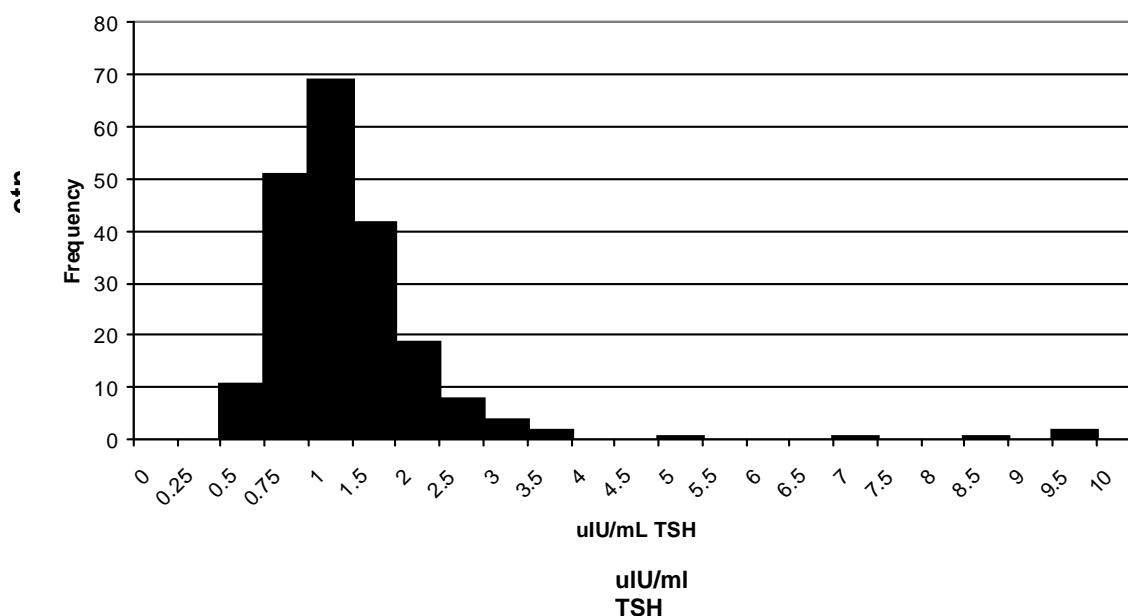
- ) Analýza TSH nebyla posouzen v prostředí zdravotnického zařízení.
- ) Výkon analýzy nebyl stanoven pro novorozenecké vzorky.

## O EKÁVANÉ HODNOTY

Byly získány vzorky od 211 jedinců. Vzorky byly získány od normální dárce se zdravou krví bez jakýchkoli klinicky abnormálních indikací. Hladiny TSH byly určeny imunoanalýzou FastPack® IP TSH a FastPack® TSH ve spojení s analyzátořem systému FastPack® IP a FastPack® s cílem určit koncentraci TSH u normální populace. Na základě těchto dat je pro imunoanalýzu FastPack® IP TSH a FastPack® TSH očekávaný normální rozsah 0,66 – 5,45  $\mu\text{IU/ml}$ . Tento očekávaný rozsah odráží dárcovskou populaci v této studované skupině. Každá laboratoř by měla určit vlastní referenční rozsah vhodný pro jejich populaci.

## Distribuce četností hodnot TSH

Na základě systému FastPack IP® od  
Qualigen  
(n = 211)



## SPECIFICKÉ VÝKONOVÉ CHARAKTERISTIKY

### Přesnost

Reprodukovatelnost analýzy TSH byla měřena testováním sloučených vzorků plasmy duplicitně pro každý vzorek v průběhu deseti dní za použití těchto analyzátořů a dvou šarží inidel. Přesnost je vyjádřena jako variační koeficient. Vzorky použité k posouzení přesnosti byly rozloženy v celém lineárním rozsahu analýzy.

Vzorek	Počet vzorků (N)	Průměr ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Mezi stanověními % CV	Mezi analyzátoři % CV	Mezi šaržemi inidel % CV	CELKOVÉ % 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

Kromě výše uvedených vzorků byly testovány kontrolní materiály za použití těchto analyzátořů a dvou šarží inidel. Přesnost je vyjádřena jako variační koeficient. Kontrolní vzorky pro posouzení přesnosti odpovídaly očekávaným hodnotám pro zjevně zdravé jedince.

Vzorek	Počet vzorků (N)	Průměr ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Mezi stanověními % CV	Mezi analyzátoři % CV	Mezi šaržemi inidel % CV	CELKOVÉ % 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

Přesnost pro sérové vzorky byly porovnány s přesností plazmových vzorků prostřednictvím analýzy odpovídajících vzorků pokrývajících celý rozsah analýzy. Přesnost je vyjádřena jako variační koeficient. Studie prokázala ekvivalentní výsledky u sérových i plazmových vzorků.

Rozsah koncentrací vzork	Počet vzork (N)	CV pro plazmu	CV pro sérum
0,0 - 1,0 µIU/ml	40	6,1 %	7,0 %
1,0 - 40,0 µIU/ml	101	4,4 %	4,4 %
40,0 - 100,0 µIU/ml	32	5,4 %	4,0 %

## ROZSAH LINEARITY

### Sérum

Rozsah linearity pro sérové vzorky byl posuzován podle pokynů CLSI EP6-A. Pro TSH v séru při testování analýzou FastPack® IP TSH a FastPack® TSH bylo prokázáno, že je metoda lineární od 0,11 µIU/ml (mez detekce) do 100 µIU/ml v rozmezí 5 µIU/ml v tomto intervalu.

### Plazma

Rozsah linearity pro plazmové vzorky byl posuzován podle pokynů CLSI EP6-A. Pro TSH v plazmě při testování analýzou FastPack® IP TSH a FastPack® TSH bylo prokázáno, že je metoda lineární od 0,08 µIU/ml (mez detekce) do 100 µIU/ml v rozmezí 5 µIU/ml v tomto intervalu.

## SROVNÁNÍ METOD

### FastPack® vs. Abbott IMx Ultrasensitive hTSH II

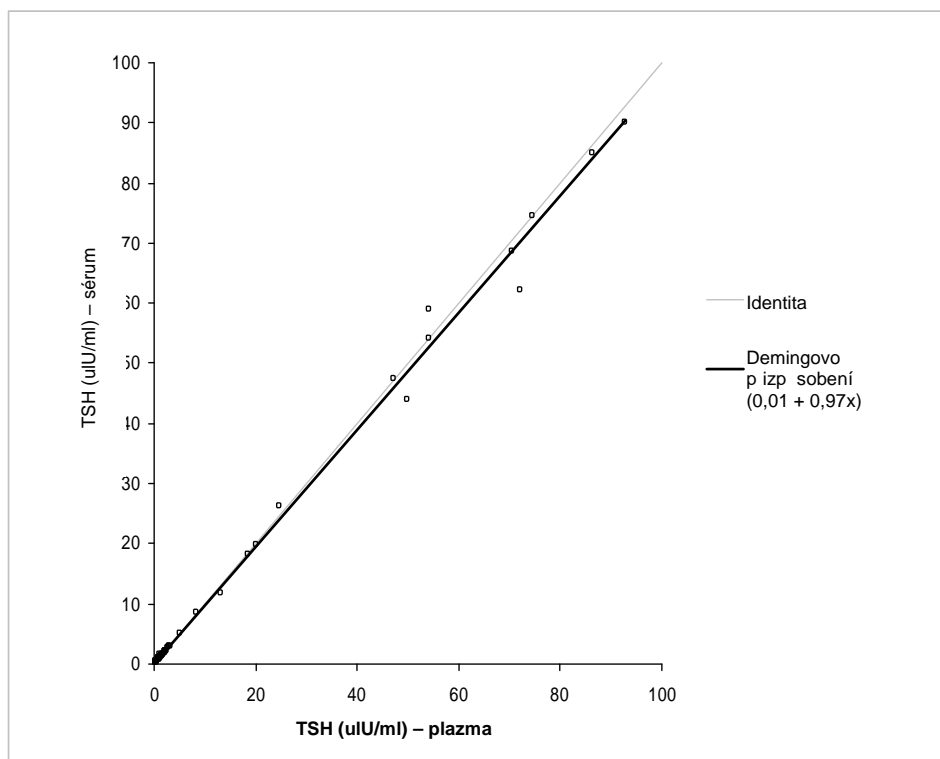
Klinické vzorky (n= 96 získané jako zmrazené vzorky plazmy v externích laboratořích) byly použity pro srovnání plazmových hodnot získaných metodou FastPack® IP TSH a FastPack® TSH a plazmových hodnot získaných metodou Abbott IMx Ultrasensitive hTSH II. Hodnoty byly posouzeny na shodu pomocí lineární regrese analýzy s asociovaným korelačním koeficientem.

n	Rozsah pozorování (µIU/ml)	Přesnost (µIU/ml)	Sklon	R
96	0,03 až 87,99	0,83	1,03	0,97

### FastPack® sérum vs. FastPack® plazma

Od 74 zdravých dobrovolníků mužského i ženského pohlaví ve věku 18 až 60 let byly provedeny odběry a tyto vzorky byly současně zpracovány na heparinové plazmové a sérové vzorky. Hodnoty byly posouzeny na shodu pomocí lineární regrese analýzy s asociovaným korelačním koeficientem.

n	Rozsah pozorování (µIU/ml)	Přesnost (µIU/ml)	Sklon	R
74	0,22 – 92,75 (heparinové plazmové)			
74	0,24 – 90,00 (sérové)	0,01	0,97	1,00



## RUŠÍCÍ LÁTKY

K sérovým vzorkům obsahujícím známá množství TSH byly přidány rušící látky. Hodnota získaná pro každé sérové nebo plazmové vzorky s každou rušící látkou byla srovnána s hodnotou získanou pro sérum nebo plazmu bez rušící látky. Pro tuto studii bylo stanoveno kritérium pro přijetí bylo  $\pm 20\%$  hodnoty pro sérové nebo plazmové vzorky bez přidání rušící látky. Tyto sloučeniny nevykazují rušení na indikovaných úrovních.

Koncentrace TSH v sérových vzorcích ( $\mu\text{U/ml}$ )	Rušící látky	Koncentrace, rušící látky	% rušení
1,0, 5,0, 20,0	Bilirubin	40 mg/dl	< 10
1,0, 5,0, 20,0	Hemoglobin	1 000 mg/dl	< 20
1,0, 5,0, 20,0	Triglyceridy	1 000 mg/dl	< 5

Koncentrace TSH v plazmových vzorcích ( $\mu\text{U/ml}$ )	Rušící látky	Koncentrace, rušící látky	% rušení
1,85	Bilirubin	40 mg/dl	< 5
1,63	Hemoglobin	1 000 mg/dl	< 5
1,63	Triglyceridy	1 000 mg/dl	< 10

Ke kontrolním vzorkům obsahujícím známé množství TSH byly přidány rušící látky. Hodnoty naměřené u séra s jednotlivými rušícími látkami byly srovnány s hodnotami naměřenými u kontrolních vzorků bez rušících látek. Tyto sloučeniny nevykazovaly rušení na indikovaných úrovních.

**Testovaná látka**

d-biotin

**Testovaná koncentrace**

250 ng/mL

## MEZ SLEPÉHO VZORKU (LOB), MEZ DETEKCE (LOD) A MEZ KVANTIFIKACE (LOQ)

Mez slepého vzorku (LOB, nejvyšší množství, které může být pravděpodobně zjištěno pro slepý vzorek), mez detekce (LOD, nejnižší množství analytu ve vzorku, které lze zjistit s mírou chyb typu I a II stanovené na 5 %) a mez kvantifikace (LOQ, nejnižší množství analytu ve vzorku, které lze spolehlivě zjistit a pro které celková chyba splňuje požadavek správnosti) byly určeny pro sérum a plazmu podle CLSI EP17-A. V této studii byla mez slepého vzorku pro sérové a plazmové vzorky určena z 60 replikovaných stanovení vzorku s odstraněnými fibriny a lipidy a dvakrát filtrovaného přes aktivní uhlí. Surové signály RLU z analýz byly konvertovány na zjevné  $\mu\text{IU/ml}$  na základě kalibrační křivky pro každou analýzu. Pro každý typ vzorku byla určena LOB jako neparametrický 95. percentil distribuce hodnot. Tato hodnota byla 0,016  $\mu\text{IU/ml}$  TSH pro sérové vzorky a 0,019  $\mu\text{IU/ml}$  TSH pro plazmové vzorky.

Pro sérové vzorky byla LOD odhadnuta na základě 60 replikovaných stanovení těchto sérových vzorků s nízkou koncentrací. Na základě Gaussovy křivky byla LOD určena podle následující rovnice:

$$\text{LOD} = \text{LOB} + (c_B \times \text{SDs}),$$

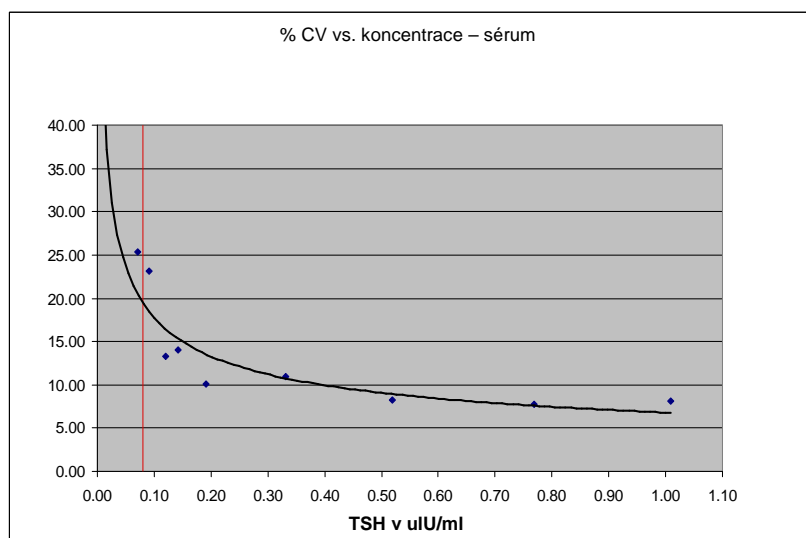
Kde  $c_B = 1,645/(1-(1/(4 \times f)))$ , kde  $f$  jsou stupně volnosti a  $\text{SDs}$  je směrodatná odchylka pozorování. V této studii byla LOD určena na 0,11  $\mu\text{IU/ml}$  TSH.

Pro plazmové vzorky byla LOD odhadnuta na základě 60 replikovaných stanovení šesti plazmových vzorků s nízkou koncentrací. Na základě negaussova rozdělení byla LOD určena identifikací nejnižšího vzorku s hodnotami, které vykazovaly <5 % přesah s hodnotami slepého vzorku. Tato koncentrace byla určena jako 0,08  $\mu\text{IU/ml}$  TSH.

Pro určení LOQ v séru a plazmě byly prospektivně definována kritéria pro přijetí pro správnost 80 - 120 % výtěžku cílové hodnoty vzorků s nízkou koncentrací a <20 % CV. V této studii splňoval sérový vzorek s přijatelnou hodnotou 0,127  $\mu\text{IU/ml}$  TSH kritéria pro přijetí. Pro plazmový vzorek splňovala kritéria pro přijetí hodnota 0,129  $\mu\text{IU/ml}$  TSH.

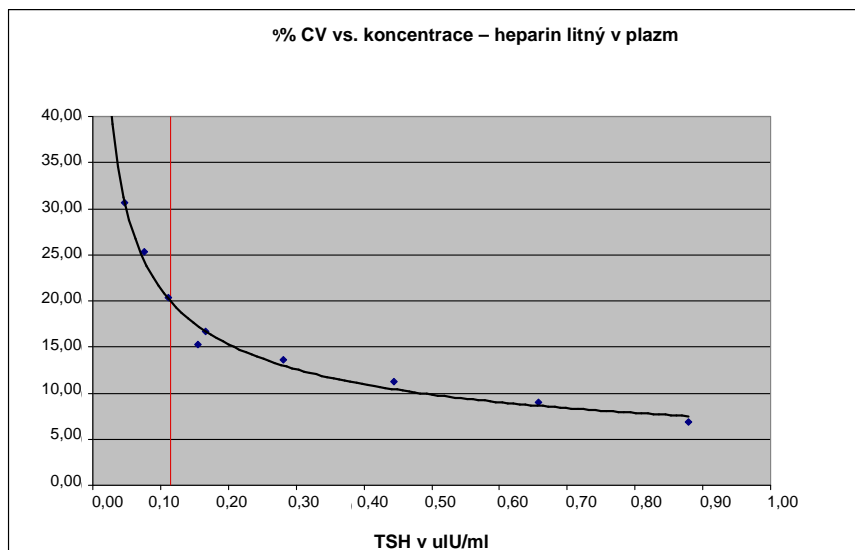
## FUNKČNÍ CITLIVOST V SÉRU A HEPARINOVÉ PLAZMĚ

Funkční citlivost definovaná jako koncentrace v  $\mu\text{IU/ml}$  TSH, při které analýza dosahuje CV 20 %, byla určena pro sérové vzorky a plazmové vzorky s heparinátém litným. Pro obě metody zahrnovalo zkoumání přípravu 9 vzorků ve specifikované matici v rozsahu ~0,05 až 1  $\mu\text{IU/ml}$  TSH, následované analýzou každého vzorku v 30 replikovaných stanoveních, (6 replikovaných stanovení/den v průběhu 5 dní zkoušení) s jednou šarží inidel FastPack® TSH. Střední směrodatná odchylka (SD) a % CV byly spočteny z replikovaných stanovení. Střední koncentrace TSH pro každý vzorek byla následně vynesena oproti % CV a tato data proložena exponenciální funkcí ve formě  $Ae^{kx}$ . Koncentrace, při které byla dosažena 20 % CV, byla identifikována na základě proložených dat. Následující graf znázorňuje vztah mezi střední koncentrací a % CV. Svislá čárka na grafu označuje bod, pro který je dosažena 20 % CV. Pro analýzu séra s FastPack® IP TSH a FastPack® TSH je tento bod 0,08  $\mu\text{IU/ml}$  TSH. Funkční citlivost FastPack® IP TSH a FastPack® TSH pro analýzu séra je tedy odhadnuta na 0,08  $\mu\text{IU/ml}$  TSH.



### Funkční citlivost plazmového vzorku TSH s heparinátem litným

Následující graf znázorňuje vztah mezi střední koncentrací a % CV. Svislá čárka na grafu označuje bod, pro který je dosažena 20 % CV. Pro analýzu heparinové plazmy s FastPack® IP TSH a FastPack® TSH je tento bod 0,115  $\mu$ U/ml TSH. Funkční citlivost FastPack® IP TSH a FastPack® TSH pro analýzu heparinové plazmy je tedy odhadnuta na 0,115  $\mu$ U/ml TSH.



### SPECIFICITA

#### Sérum

Byly připraveny tři zásobní roztoky sérových vzorků pro dosažení koncentrací ~ 1, 5 a 20  $\mu$ U/ml TSH. Každý vzorek byl rozdělen na čtyři alikvotní množství a tři z nich byly kontaminovány hCG, LH a FSH v koncentracích 200 000, 500 a 500 mIU/ml. Vzorky byly testovány společně s nekontaminovaným referenčním vzorkem v pěti replikacích každý na dvou přístrojích FastPack® za využití jedné šarže zkušebních karet. Data byla analyzována s ohledem na % rozdílu oproti referenčnímu vzorku bez obsahu kontaminujících látek. Pro tuto studii bylo předem stanoveno kritérium pro přijetí  $\pm$  20 % hodnoty referenčního nekontaminovaného vzorku. V žádném případě neovlivnily kontaminující látky výsledek o více než 20 %.

#### Plazma

Plazma s odstraněným TSH byla kontaminována různou koncentrací hCG, FSH a LH pro určení, zda tyto materiály dávají pozitivní signál TSH při analýze. Bylo zjištěno, že křížová reaktivita protilátky použité ve FastPack® IP TSH a FastPack® TSH není pro hCG, LH a FSH testovaných v koncentracích 200 000, 500 respektive 500 mIU/ml detekovatelná.

## ODKAZY

- <sup>1</sup> Braverman, LE, Utigen, RD, Eds: Werner and Ingbar's The Thyroid. A Fundamental and Clinical Text. 7th ed., Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996.
- <sup>2</sup> Burtis, CA, Ashwood, ER, Eds: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed., New York, WB Saunders Company, p. 1492, 1999.
- <sup>3</sup> Larsen, PR: Thyroid-pituitary interaction. N. Engl. J. Med., 306:23-32, 1982.
- <sup>4</sup> Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5<sup>th</sup> Edition: H3-A5: 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)
- <sup>5</sup> Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2; 19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- <sup>6</sup> Schroff, RJ, Foon, KA, *et.al*: Human anti-mouse immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res, 45:879 – 885, 1985
- <sup>7</sup> Jackson, IM: Thyrotropin-releasing hormone. N. Engl. J. Med., 306: 145-155, 1982.
- <sup>8</sup> Pierce, JG: Subunits of Pituitary Thyrotropin. Their relationship to other glycoprotein hormones. Endocrinology, 89: 1331-1344, 1971.
- <sup>9</sup> Nicoloff JT, Spencer CA: The use and misuse of the sensitivity thyrotropin assays. J. Clin. Endocrinology, 71, 553 – 558, 1990.
- <sup>10</sup> 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  
Technická podpora  
+1 (760) 918-9165  
+1 (877) 709-2169



MDSS  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover  
N mecko



© 2000 Qualigen, Inc. Všechna práva vyhrazena. Qualigen a FastPack jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Qualigen, Inc. Všechny ochranné známky jsou vlastnictvím jejich příslušných vlastníků .