

For the Quantitative Measurement of free T₄ in Human Serum

The concentration of free T₄ (FT₄) 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 free T₄ assay method used. Values obtained with different assay methods should not be used interchangeably.

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

INTENDED USE

The FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay is a paramagnetic particle immunoassay for the *in vitro* quantitative determination of FT₄ in human serum. The FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay is designed for use with the FastPack® IP System.

SUMMARY

The thyroid hormone, thyroxine (T₄) is secreted from the thyroid gland located in the neck. Thyroid hormone is indispensable for growth, development, and sexual maturation. T₄ effects metabolic activity in many tissues leading to increased consumption of oxygen, and stimulation of mitochondrial respiration¹. Additionally, T₄ action includes stimulation of heart rate and heart contraction, stimulation of protein synthesis and carbohydrate metabolism, increase in the synthesis and degradation of cholesterol and triglycerides, increase in vitamin requirements, and enhancement of sensitivity of β-adrenergic receptors to catecholamines. These effects are usually magnified in patients with hyperthyroidism and minimized in patients with hypothyroidism².

T₄ in the circulation is reversibly and almost completely bound to carrier proteins (T₄-binding globulin, T₄-binding prealbumin, and albumin). Only about 0.03 % of the T₄ is unbound or free. All of the biological activity is associated with the free form of the hormone (free T₄). The large concentration of protein-bound hormone acts as a reservoir of T₄, maintaining a constant concentration of free T₄. Large variations in the concentration of these proteins, and total T₄ levels even in normal (euthyroid) individuals is temporized by having the active, free-form of the hormone as a small fraction of the total. Hence measurement of the free T₄ level is important in the diagnosis of hormone excess or deficient states.

Measuring the free T₄ has traditionally been accomplished by indirect means. Using an assay for the total T₄ coupled with a Thyroxine Uptake (TU), a Free Thyroxine Index (FTI)³, which is indirectly proportional to the FT₄ value, can be obtained. Direct determinations use equilibrium dialysis, ultrafiltration, RIA, and solid-phase EIAs are used to determine the FT₄ levels.

The FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay is based on a competitive immunoassay principle: free T₄ in the sample (control or patient) competes with T₃ covalently coupled to a solid phase paramagnetic particle for an alkaline phosphatase-labeled anti-T₄ monoclonal antibody. The amount of labeled-anti-T₄ antibody bound to the magnetic particle is inversely proportional to the concentration of FT₄ in the sample.

TEST PRINCIPLE

The FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay is a competitive chemiluminescence assays.

- Primary incubation: Antibody solution (a buffer solution containing a monoclonal anti-thyroxine (T₄) antibody labeled with alkaline phosphatase)[100 μL] reacts with Free T₄ from the patient's sample, control, or calibrator [100 μL].
- Secondary incubation: The reaction mixture is added to streptavidin coated paramagnetic particles with tri-iodo thyronine (T₃)-biotin on the particle surface. During this incubation, the T₃-coated beads compete with the sample free T₄.
- Removal of unbound materials: The paramagnetic particles are washed with wash buffer [0.2 mL/wash] to remove unbound materials.
- Substrate addition and detection: Chemiluminogenic substrate [140 μL] is added to the solid-phase bound complex and results in "glow" chemiluminescence, which is measured using the FastPack® IP Analyzer.
- The amount of bound labeled-antibody is inversely proportional to the concentration of FT₄ in the sample.

REAGENTS – Content and Concentration

Each FastPack® IP carton contains:

- 30 FastPack® IPs

Each FastPack® carton contains:

- 50 FastPacks

Each FastPack® IP or FastPack® Contains:

- Paramagnetic Particles, 150 µL
- Streptavidin-coated paramagnetic particles with bound T₃-biotin in buffer containing 0.1% sodium azide as a preservative.
- T₄ Antibody Solution, 100 µL
- Antibody solution containing mouse monoclonal anti-T₄ 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
- ImmGlow™: Indoxyl-3-phosphate and lucigenin in buffer containing preservatives.

Materials required but not provided

- FastPack® IP System
- FastPack® free T₄ Calibrator Kit – Cat. No. 25000016
- FastPack® free T₄ Control kit – Cat No. 25000027

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink or smoke in designated work areas.
- Wash hands thoroughly after handling specimen.
- HAMA Interference: some individuals have antibodies to mouse protein (HAMA), which can cause interference in immunoassays that employ antibodies derived from mice⁶.
- FastPack® IP and FastPack® reagents are stable until the expiration date on the label when stored and handled as directed. Do not use FastPack® IP and FastPack® reagents beyond the expiration date.
- Discard used FastPack® IPs into a Biohazard container.
- The components containing Sodium Azide are classified per applicable European Economic Community (EEC) Directive as: Very toxic and dangerous to the environment (T+ N). The following are the appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases:

R28	Very toxic if swallowed
R32	Contact with acids liberate 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 a hazardous waste.
S61	Avoid release to the environment. Refer to special instructions/safety data sheets.

- The components containing Proclin 150 are classified per applicable European Economic Community (EEC) Directives as: Corrosive (C). the following are appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases for Proclin 150:

R34	Causes burns.
R43	May cause sensitization by skin contact.
S26	In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.
S36/37/39	Wear suitable protective clothing, gloves, and eye/face protection.
S45	In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible)

STORAGE INSTRUCTIONS

Store at 2 – 8 °C. Protect from light.

SPECIMEN COLLECTION/PREPARATION

1. Serum samples can be used for the FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay.
2. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) provides recommendations for handling, processing, and storing blood.^{4,5}
3. Collect all blood samples observing routine precautions for venipuncture.
4. For serum samples:
 - Collect samples in red top tubes with no gel separator.
 - 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.

- Remove serum from the cells prior to storage at 2–8° C.
 - If not tested within 24 hours, the sample should be frozen at –20° C or colder.
5. Do not freeze samples (–20 °C) for more than two months.
 6. Frozen samples should be thawed completely and mixed by gentle inversion prior to use.
 7. Samples should be free of Fibrin, Red Blood Cells, or other particulate material for optimal results.
 8. Serum samples showing turbidity and particulate matter should be centrifuged prior to use.
 9. Ensure the samples are free of bubbles.
 10. Human samples should be handled in accordance with the OSHA standard on Blood borne Pathogens.⁷

ASSAY PROCEDURE

See the FastPack® IP System Procedure Manual for information on operating the FastPack® IP System.

INSTRUMENTATION

FastPack® IP System

DETAILS OF CALIBRATION

During the FastPack® IP and FastPack® production process, Qualigen generates a master standard curve and places this information in the barcode of each FastPack® IP and FastPack® label, where it can be read by the FastPack® IP Analyzer during the testing sequence. The FastPack® IP Analyzer must be calibrated by the user to ensure that it is properly adjusted for the particular lot of FastPacks that is being used. Separate calibrations must be run for each type of test, i.e. Total PSA, Testosterone, or free T₄. The frequency of calibration varies for each test type. For the FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay, the FastPack® IP Analyzer must be calibrated once every 14 days or whenever a new lot of free T₄ FastPacks are to be used.

Whenever the user performs an initial calibration for a particular lot of FastPacks or uses a new lot of calibrator, 2 FastPacks must be run for calibration (duplicates). Whenever recalibration is performed with the same lot of FastPacks and calibrator, 2 FastPacks must be run for calibration. See FastPack® IP System Procedure Manual for “Running a Calibration”.

Use FastPack® free T₄ Calibrator Kit – Cat. No. 25000016

RESULTS

The FastPack® IP 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) includes the use of control specimens to ensure that all reagents and protocols are performing properly. Commercial control products (such as Bio-Rad Liqui-chek® Immunoassay Plus Control, level 2 and 3) are available which contain FT₄. See FastPack® IP System Procedure Manual for “Running Controls”.

LIMITATION OF PROCEDURE

- Specimens can be measured within the reportable range of the analytical sensitivity and the upper end of the calibration range, 6 ng/dL.
- Samples >6 ng/dL should be reported as such or re-run using another method. Dilution of out of ranges results is not recommended.
- Specimen from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits employing mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in a sample have the potential to cause interference in immunoassay systems. Infrequently, FT₄ levels may appear elevated due to heterophilic antibodies present in the patient’s serum or to nonspecific protein binding. If the FT₄ level is inconsistent with clinical evidence, additional FT₄ testing is suggested to confirm the result.
- For diagnostic purposes, the FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay should always be assessed in conjunction with the patient’s medical history, clinical examination and other findings.

EXPECTED RANGE

Serum samples were obtained from 207 individuals (99 male and 108 female). Samples were obtained from normal, healthy blood donors without any clinically abnormal indications. FT₄ levels were determined using the FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay in conjunction with the FastPack® IP Analyzer in order to establish the FT₄ concentration in the normal population. From this data the expected normal range for the FastPack® IP and FastPack® free T₄ Immunoassay is 0.5 – 1.4 ng/dL. The expected range reflects the 95% Confidence Interval of the donor population of this study group. Each laboratory should determine their own reference range appropriate for their population.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision

The reproducibility of the FT₄ assay was measured by 2 patient samples in duplicate (n=54, for each sample) over ten days using three analyzers and two lots of reagents. Precision is expressed as the Coefficient of Variation.

Sample	Mean (ng/dL)	Between Run CV%	Between Analyzer CV%	Between Reagent Lot CV%	TOTAL CV%
1	1.43	7.4	2.8	11.1	11.5
2	3.51	6.2	1.8	4.8	7.2

Method Comparison

Clinical samples were used to compare the serum values obtained using the FastPack[®] IP and FastPack[®] FT₄ method and the serum value obtained using the Abbott IMx Free T₄ method. The values were evaluated for agreement using Deming regression analysis. Pearson correlation was used to test association between the values.

n	Range of Observation (ng/dL)	Intercept (ng/dL)	Slope	r
131	0.41 to 5.93	-0.169	1.07	0.95

Interfering Substances

Interfering substances were added to serum samples containing known amounts of FT₄. 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
Bilirubin	40 mg/dL
Hemoglobin	1,000 mg/dL
Triglycerides	1,000 mg/dL

Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity of FT₄ is 0.4 ng FT₄/dL. This value was interpolated from the dose-response curve that was minus two standard deviations below the average of the zero calibrator signal (n >10/analyzer/lot).

Specificity

Cross-reactivity of the antibody used in the FastPack[®] IP and FastPack[®] Free T₄ assay was shown to be < 1% for L-T₃.

REFERENCES

- ¹ Braverman, LE, Utigen, RD, Eds: Werner and Ingbar's The Thyroid. A Fundamental and Clinical Text. 7th ed., Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996.
- ² Burtis, CA, Ashwood, ER, Eds: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed., New York, WB Saunders Company, p. 1492, 1999.
- ³ Horworth, PJN, Ward RL, J. Clin.Pathol., 25, 259, 1972.
- ⁴ Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition: H3-A5: 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)
- ⁵ Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2;19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ⁶ Schroff, RJ, Foon, KA, et.al.: Human anti-mouse immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res, 45:879 – 885, 1985
- ⁷ US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final rule. Federal Register 1991; 56(235): 64175-82.



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



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Germany



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

Für die quantitative Bestimmung des Freien T₄ (FT₄) in menschlichem Serum

Die Konzentration des Freien T₄ (FT₄) einer gegebenen Probe kann von Test zu Test verschiedener Hersteller aufgrund unterschiedlicher Methodik und Spezifität, variieren. Die von einem Labor an einen Arzt befundeten Ergebnisse müssen die jeweilige Testmethodik des Freien T₄ (FT₄) Assay ausweisen. Werte die von verschiedenen Testmethoden ermittelt wurden dürfen nicht austauschbar verwendet werden.

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

VERWENDUNGSZWECK

FastPack® IP und FastPack® Freies T₄ Immunoassay ist ein paramagnetischer Partikel Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von FT₄ in menschlichem Serum. Der FastPack® IP und FastPack® Freies T₄ Immunoassay ist für den Gebrauch mit dem FastPack® IP System entwickelt worden.

ÜBERSICHT UND ARBEITSPRINZIP

Das Schilddrüsenhormon Thyroxine (T₄) wird von der Schilddrüse ausgeschüttet. Die Schilddrüsenhormone sind für das Wachstum, die Entwicklung und die sexuelle Reifung unersetzlich. T₄ beeinflusst die Stoffwechselaktivitäten im Gewebe, die zu erhöhtem Sauerstoffbedarf und zur Stimulation mitochondrialer Respiration führt. Darüberhinaus stimuliert T₄ den Herzschlag und die Herzkontraktilität, sowie die Proteinsynthese und den Kohlehydratstoffwechsel, die Erhöhung der Synthese und des Abbaus von Cholesterin und der Triglyceride, die Erhöhung des Vitaminbedarfs und die Ausweitung der Sensitivität des β-adrenergischen Rezeptors der Katecholamine. Diese Effekte, sind bei Patienten mit Hyperthyreose verstärkt und bei Patienten mit Hypothyreose vermindert.

T₄ ist im Blutkreislauf fast vollständig, jedoch reversibel, an Trägerproteine gebunden (T₄-bindendes Globulin, T₄-bindendes Präalbumin, und Albumin). Nur ca. 0,03% des T₄ ist ungebunden und frei. Die gesamte biologische Aktivität ist mit der freien Form des Hormons (Freies T₄) assoziiert. Die hohe Konzentration des proteingebundenen Hormons agiert als Reservoir für das T₄, um einen konstanten Spiegel des Freien T₄ zu gewährleisten. Große Schwankungen der Konzentration dieser Proteine und des Gesamt-T₄, sogar bei normalen (euthyreoten) Individuen wird dadurch beschleunigt, dass die aktive, freie Form des Hormons nur eine kleine Fraktion des Gesamten ist. Daher ist die Bestimmung der Höhe des Freien T₄ wichtig für die Diagnose von Hormonüberschuß- oder Hormonmangelzuständen.

Die Messung des Freien T₄ wurde in der Vergangenheit indirekt durchgeführt, durch Messung von T₄ gemeinsam mit einem Thyroxin Uptake (TU), oder einem Freien Thyroxin Index, welche indirekt proportional zum Freien FT₄ ist. Direkte Bestimmungen des Freien FT₄ verwenden die Equilibrium Dialyse, die Ultrafiltration, RIA und die festphasen EIA's. Der FastPack® IP und FastPack® Freies T₄ Immunoassay basiert auf dem Prinzip eines kompetitiven Immunoassay: Freies T₄ in einer Probe (Kontrolle oder Patientenprobe) stehen im Wettbewerb zu T₃ das an einer festen Phase paramagnetischer Partikel für Alkalinphosphatase markierten-anti-T₄ monoklonalen Antikörper. Die Höhe des markierten-anti-T₄ Antikörper der an die magnetischen Partikel gebunden ist, ist indirekt proportional zur Konzentration des FT₄ in der Probe.

TESTPRINZIP

Der FastPack® IP und FastPack® Freies T₄ Immunoassay ist ein kompetitiver Chemilumineszenzassay.

- Primäre Inkubation: Die Antikörperlösung (eine Pufferlösung, die einen mit Alkalinphosphatase markierten monoklonalen Anti-Thyroxin Antikörper enthält [100 µL]) reagiert mit dem Freien T₄ der Patientenprobe (Kontrolle oder Kalibrator) [100 µL].
- Sekundäre Inkubation: Dieses Gemisch wird zu den Streptavidin beschichteten, paramagnetischen Partikeln, deren Oberfläche mit Trijodthyrodine (T₃)-biotin beschichtet ist, zugegeben. Während der Inkubation stehen die T₃-beschichteten Partikel mit dem Freien T₄ der Probe im Wettbewerb
- Beseitigung des ungebundenen Materials: Die paramagnetischen Partikel werden mit Waschpuffer gewaschen [0,2 mL/Waschvorgang]
- Zugabe des Substrats und Detektion: Chemilumineszierendes Substrat [140 µL] wird dem, an die feste Phase gebundenen Komplex zugegeben und resultiert in chemilumineszierendem „Licht“, das vom FastPack® IP Analysegerät gemessen wird. Die Menge des gebundenen, markierten Antikörper ist zur Konzentration des Freien FT₄ in der Probe indirekt proportional

REAGENZIEN – Inhalt und Konzentration

Jeder FastPack® IP-Karton enthält:

- 30 FastPacks

Jeder FastPack®-Karton enthält:

- 50 FastPacks

Jeder FastPack® IP oder FastPack® enthält:

- Paramagnetische Partikel, 150 µL
- Streptavidin-beschichtetes paramagnetische Partikel mit gebundenen T₃-Biotin im Puffer, mit 0.1% Natriumazid als Konservierungsmittel. TSH-Antikörperlösung, 100 µL
- T₄ Antikörper Lösung, 100 µL
- Die Antikörperlösung enthält monoklonale Maus-anti T₄ Antikörper, die mit alkalischer Phosphatase markiert in einer Proteinkinase sind, welche Proclin® 150 als Konservierungsmittel enthält
- Waschpuffer, 2,0 mL
- Oberflächenaktive Substanzen mit Tris-Puffer.
- Substrat, 140 µL
- ImmuGlow™: Indoxyl-3-Phosphat und Lucigenin in Puffer mit Konservierungsstoffen.

Erforderliche Materialien, die nicht im Lieferumfang inbegriffen sind

- FastPack® IP System
- FastPack® Freies T₄ Kalibrator-Kit – Kat.-Nr. 25000016
- FastPack® Freies T₄ Kontroll-Kit – Kat.-Nr. 25000027

WARNUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

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

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

- Die Komponenten, die Proclin 150 enthalten, sind entsprechend der anzuwendenden Richtlinie der europäischen Gemeinschaft (EEC) als: Corrosiv (C) einzuschätzen. Die folgenden sind die Risiko- (R) und Sicherheits- (S) Formulierungen für Proclin 150:

R34	Erzeugt Ausschläge.
R43	kann bei Berührung mit Haut zu Irritationen führen.
S26	Im Falle von Augenkontakt, die Augen umgehend mit reichlich Wasser spülen und einen Arzt aufsuchen
S36/37/39	Tragen Sie passende Schutzkleidung, Handschuhe und Schutzrillen, sowie Gesichtsschutz
S45	Im Falle eines Unfalls oder bei Unwohlsein sofort einen Arzt aufsuchen (wenn möglich das Etikette zeigen)

LAGERUNG

Bei 2 – 8°C und vor Licht geschützt lagern.

PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

1. Serumproben können für FastPack® IP und FastPack® Freies T₄ Immunoassay verwendet werden.
2. Das National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) erteilt folgende Empfehlungen für die Handhabung, Aufbereitung und Lagerung von Blut.^{4,5}
3. Bei der Entnahme von Blutproben sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen bei der Venenpunktion zu beachten.

4. Für Serumproben:
 - Entnehmen Sie die Probe mit dem roten Kollektor und keinem Gelseperator.
 - Stellen Sie sicher, dass die Probe völlig geronnen ist bevor Sie sie zentrifugieren. Manche Proben können auch verlängerte Gerinnungszeiten aufweisen. Besonders jene von Patienten die eine antikoagulierende oder antithrombotische Therapie erhalten.
 - Das Serum innerhalb von 3 Stunden nach Entnahme trennen und zentrifugieren.
 - Trennen sie das Serum von den Zellen evor es bei 2-8°C gelagert wird.
 - Proben, die nicht innerhalb von 24 Stunden analysiert werden, müssen bei mindestens –20°C eingefroren werden.
5. Die eingefrorenen Proben (-20°C) nicht länger als 2 Monate lagern.
6. Die eingefrorenen Proben müssen vollständig auftauen und danach vorsichtig durch schwenken mischen.
7. Für optimal Resultate müssen die Proben frei von Fibrin, roten Blutkörpern oder anderer Partikel sein
8. Serumproben die trüb sind und Partikel aufweisen müssen vor Verwendung zentrifugiert werden.
9. Stellen sie sicher, dass die Probe blasenfrei ist.
10. Humanproben müssen gemäß den OSHA Standards für Blutpathogene behandelt werden.⁷

ASSAYVERFAHREN

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

ANALYSEGERÄT

FastPack® IP System

EINZELHEITEN ZUR KALIBRIERUNG

Während des FastPack® IP und FastPack®-Produktionsprozesses generiert Qualigen eine Standardkurve und schreibt diese Informationen in den Barcode jedes FastPack® IP und FastPack® Etiketts, aus dem sie vom FastPack® IP Analyzer während der Testsequenz gelesen werden können. Der FastPack® IP Analyzer muss vom Benutzer kalibriert werden, um sicherzustellen, dass er für die verwendete Charge von FastPacks ordnungsgemäß justiert ist. Für jeden Testtyp, z. B. gesamtes PSA, Testosteron oder Freies T₄, müssen separate Kalibrierungen vorgenommen werden. Die Kalibrierungshäufigkeit ist für jeden Testtyp verschieden. Für den FastPack® IP und FastPack® Freies T₄-Immunoassay muss der FastPack® IP Analyzer alle 14 Tage oder vor jedem gebrauch einer neuen Charge von Freiem T₄ FastPacks kalibriert werden.

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

Zur Kalibrierung dient das FastPack® Freies T₄ Kalibrator Kit – Kat.-Nr. 25000016.

ERGEBNISSE

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

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Qualitätskontrollen werden zur Simulation echter Proben verwendet und sind von wesentlicher Bedeutung für die Leistungsüberwachung der Assays. Zu den Arbeitsgrundsätzen jedes guten Labors sollte die Verwendung von Kontrollproben gehören, um zu gewährleisten, dass alle Reagenzien und Protokolle sich einwandfrei verhalten. Kommerzielle Kontrollen, die FT₄ enthalten sind erhältlich (zum Beispiel Bio-Rad Liqui-check® Immunoassay Plus Control, level 2 and 3).

GRENZEN DES VERFAHRENS

- Eine exakte Messung der Proben ist innerhalb des messbaren Bereichs der Funktionellempfindlichkeit und des höchsten Kalibrators von 6 ng/dL möglich.
- Proben mit Werten >6 ng/dL sollten so berichtet oder nochmals, mit einer anderen Methode gemessen werden. Die Verdünnung von Werten außerhalb des Bereichs ist nicht empfohlen.
- Proben von Patienten, welche aus diagnostischen oder therapeutischen Gründen Präparate aus monoklonalen Antikörpern von Mäusen erhalten haben, enthalten eventuell menschliche Anti-Maus-Antikörper (HAMA). Durch Analyse mit Assay-Kits, die monoklonale Mäuse-Antikörper von Mäusen verwenden, können diese Proben fälschlicherweise entweder erhöhte oder verringerte Werte aufweisen.
- Heterophile Antikörper in Proben können eventuell zu Interferenzen in Immunoassaysystemen führen. In seltenen Fällen können erhöhte FT₄-Werte aufgrund von heterophilen Antikörpern im Plasma des Patienten oder infolge unspezifischer Proteinbindung auftreten. Steht der FT₄-Wert im Widerspruch zur klinischen Beurteilung, werden zur Bestätigung der Ergebnisse weitere FT₄-Test empfohlen.

- Zu Diagnosezwecken sollte der FastPack® IP und FastPack® Freies T4-Immunoassay stets zusammen mit der Krankengeschichte, mit klinischen Untersuchungen des Patienten und sonstigen Erkenntnissen herangezogen werden

ERWARTETER BEREICH

Serumproben von 207 normalen, gesunden Blutspendern, ohne klinische Anzeichen, wurden untersucht (99 Männer und 108 Frauen). FT₄ Werte wurden mit dem FastPack® IP und FastPack® Freies T₄ Immunoassay in Verbindung mit dem FastPack® IP Analyzegerät gemessen, um die FT₄ Konzentrationen einer normalen Population zu bestimmen. Gemäß dieser Daten ist der erwartete Normalbereich für den FastPack® IP und FastPack® Freies T₄ Immunoassay 0.5 – 1.4 ng/dL. Der erwartete Bereich repräsentiert das 95% Konfidenzintervall der Spenderpopulation dieser Studiengruppe. Jedes Labor sollte ihre eigenen Referenzbereiche gemäß der vorhandenen Population bestimmen

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Präzision

Die Reproduzierbarkeit des FT₄ Assay wurde an Hand von 2 Patientenproben in Doppelbestimmung ermittelt (n=54, für jede Probe) An 10 Tagen mit 3 Analysegeräten und 2 Reagenzienchargen wurde getestet. Die Präzision wird als Variationskoeffizient (CV) ausgedrückt.

Probe	Mittelwert (ng/dL)	Zwischen einzelnen Analyseläufen CV%	Zwischen Analysegeräten CV%	Zwischen Reagenzienchargen CV%	Gesamt CV%
1	1.43	7.4	2.8	11.1	11.5
2	3.51	6.2	1.8	4.8	7.2

Methodenvergleich

Klinische Proben wurden verwendet um Werte der FastPack® IP und FastPack® FT₄ Methode mit der des Abbott IMx Freies T₄ zu vergleichen. Die Werte wurden mittels der Deming Regressionsanalyse auf Übereinstimmung untersucht. Die Pearson Korrelation wurde herangezogen um die Übereinstimmung zwischen den Werten zu testen.

n	Beobachteter Bereich (ng/dL)	Schnittpunkt (ng/dL)	Steigung	r
131	0.41 to 5.93	-0.169	1.07	0.95

Störende Substanzen

Störende Substanzen wurden Serumproben mit bekannten FT₄ Werten, beigefügt Die Werte für die Proben jeder einzelnen störenden Substanz wurden mit den ursprünglichen Werten verglichen. Folgende Substanzen zeigten keine Interferenzen bei den angegebenen Konzentrationen.

Test Compound	Testkonzentration
Bilirubin	40 mg/dL
Hämoglobin	1,000 mg/dL
Triglyceride	1,000 mg/dL

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität des FT₄ beträgt 0.4 ng FT₄/dL. Dieser Wert wurde durch Interpolation von Werten der Dosisfindungskurve, die minus 2 Standardabweichungen unter dem Durchschnitt des Null-Kalibrators (n >10/Analyzegerät/Charge).

Spezifität

Die Kreuzreaktivität des Antikörpers, des FastPack® IP und FastPack® Freies T₄ Assay ist < 1% for L-T₃.

REFERENZEN

- ¹ Braverman, LE, Utigen, RD, Eds: Werner and Ingbar's The Thyroid. A Fundamental and Clinical Text. 7th ed., Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996.
- ² Burtis, CA, Ashwood, ER, Eds: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed., New York, WB Saunders Company, p. 1492, 1999.
- ³ Horworth, PJN, Ward RL, J. Clin.Pathol., 25, 259, 1972.
- ⁴ Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition: H3-A5: 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)
- ⁵ Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2;19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ⁶ Schroff, RJ, Foon, KA, et.al.: Human anti-mouse immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res, 45:879 – 885, 1985
- ⁷ US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final rule. Federal Register 1991; 56(235): 64175-82.



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



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Deutschland



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