

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
- ImmUGlow™: 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® 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 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 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.

- 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 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 Horwath, 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



MDSS
Schiffara



© 2000 Qualigen, Inc. All rights reserved.

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 -adrenergen 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 Alkaliphosphatase 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 Alkaliphosphatase markierten monoklonalen Anti-Thyroxin Antikörper enthält [100 μ L]) reagiert mit dem Freien T₄ der Patientenprobe (Kontrolle oder Kalibrator) [100 μ L].
- 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 μ L] 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

REAGENZIEIN – 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® Kontroll-Kit – Kat.-Nr. 250000065

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 Schutzbrille, sowie Gesichtsschutz
S45	Im Falle eines Unfalls oder bei Unwohlsein sofort einen Arzt aufsuchen (wenn möglich das Etikett 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:

- Sammeln Sie Proben in Serum Blutentnahmeröhrchen .
 - 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 bevor 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..

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.

La concentración de (FT₄) T₄ libre en una muestra mediante el análisis de diferentes fabricantes puede variar debido a las diferencias en métodos y la especificidad de los reactivos. Los resultados reportados por el laboratorio al médico deben identificar el método del análisis de T₄ libre. 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 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 FastPack® IP y el FastPack® T₄ libre son Inmunoensayos *in vitro* basados en partículas paramagnéticas destinado a la detección cuantitativa de FT₄ en el suero humano. El FastPack® IP T₄ libre y el FastPack® T₄ libre son Inmunoensayos diseñados para emplearse con los Sistemas FastPack® IP.

RESUMEN

La hormona tiroidea, la tiroxina (T₄) es secretada por la glándula tiroidea localizada en la nuca. La hormona tiroidea es indispensable para el crecimiento, desarrollo y madurez sexual. La T₄ afecta la actividad metabólica en varios tejidos resultando en el aumento del consumo de oxígeno y la estimulación de la respiración mitocondrial¹. Adicionalmente, la acción de la T₄ incluye la estimulación en el ritmo cardiaco y contracción del corazón, así como la estimulación en la síntesis de proteínas y el metabolismo de los carbohidratos, también en el incremento de la síntesis y la degradación de colesterol y triglicéridos, así como en el incremento en los requerimientos vitamínicos y en el incremento de la sensibilidad de los receptores β-adrenérgicos a las catecolaminas. Usualmente, estos efectos son magnificados en pacientes que muestran hipertiroidismo y minimizados en pacientes que muestran hipotiroidismo².

La tiroxina en la circulación es reversible y está casi completamente ligada a proteínas transportadoras (globulina a T₄ de enlace, prealbúmina de enlace a T₄ y a la albúmina). Sólo un 0,03 % de la T₄ se encuentra no ligada o libre. Toda la actividad biológica está asociada con la forma libre de la hormona (T₄ libre). La mayor concentración de hormona ligada a proteína, actúa como reserva de T₄, manteniendo así una concentración constante de T₄ libre. Grandes variaciones en la concentración de estas proteínas y niveles totales de T₄ inclusive en individuos normales (eutiroides) es temporalizada al contar con la forma libre activa de la hormona como una fracción pequeña del total. Por lo tanto, la medición de T₄ libre es importante en el diagnóstico de exceso de hormonas o estados deficientes.

Tradicionalmente, el análisis de T₄ libre se ha logrado por métodos indirectos. Estos métodos utilizan un ensayo de la T₄ total acoplada con la Tiroxina UPTAKE (TU), Índice de la Tiroxina Libre (FTI)³, que son indirectamente proporcional al valor de FT₄, obteniéndose así los valores. Los métodos directos emplean equilibrio por diálisis, ultrafiltración, RIA y EIAs de fases sólidas.

El Inmunoensayo de FastPack® IP y FastPack® T₄ libre están basados en Inmunoensayos competitivos: T₄ libre en la muestra (control o paciente) compite con T₃ covalentemente acoplada a una fase sólida de partículas paramagnéticas, por la fosfatasa alcalina marcada con un anticuerpo monoclonal anti-T₄. La cantidad de anticuerpo anti-T₄ marcado con la fosfatasa alcalina ligado a las partículas paramagnéticas es inversamente proporcional a la concentración de FT₄ en la muestra.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Los Inmunoensayos FastPack® IP y FastPack® T₄ libre son ensayos quimioluminiscentes competitivos.

- Incubación primaria: Solución de anticuerpo (solución tampón que contiene un anticuerpo monoclonal anti-tiroxina (T₄) etiquetado con fosfatasa alcalina) [100 µL] reacciona con la T₄ libre en la muestra del paciente, control o calibrador [100 µL].
- Incubación secundaria: Se añade la mezcla de reacción a las partículas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina acopladas con tri-iodo tiroxina (T₃)-biotina en la superficie de las partículas. Durante esta incubación, la T₃ que recubre a las partículas compite con la T₄ libre en la muestra.
- Eliminación de materiales no ligados: Las partículas paramagnéticas son lavadas con una solución tampón de lavado [0,2 mL/sol de lavado] para remover materiales no ligados.
- Adición de sustrato y detección: El sustrato quimioluminogénico [140 µL] es añadido al complejo ligado a la fase sólida resultando así en una señal de "resplandor" quimioluminiscente que se mide por medio del analizador FastPack® IP.
- La cantidad de anticuerpo marcado, es inversamente proporcional a la concentración de FT₄ en la muestra.

REACTIVOS – Contenido y Concentración

Cada caja de FastPack® IP contiene

- 30 FastPack® IP

Cada caja de FastPack® contiene:

- 50 FastPacks®

Cada FastPack® IP o FastPack® Contiene:

- Partículas Paramagnéticas, 150 µL
- Partículas Paramagnéticas recubiertas con estreptavidina ligadas a T₃-biotina en una solución tampón que contiene azida de sodio 0,1% como conservante.
- Solución de anticuerpo de T₄, 100 µL
- Solución de anticuerpo, que contiene anticuerpo monoclonal murino anti-T₄ marcado con fosfatasa alcalina en una matriz con proteína que contiene Proclin® 150 como conservante.
- Solución de lavado, 2,0 mL
- Solución tampón TRIS que contiene agentes tensoactivos.
- Sustrato, 140 µL
- ImmunoGlow : Indoxyl-3-phosphato y lucigenina en solución tampón que contiene agentes conservadores.

Materiales requeridos no incluidos

- Sistema FastPack® IP
- Kit calibrador FastPack® T₄ libre – Núm. de catálogo 25000016
- Kit de control FastPack® – Núm. de catálogo 25000065

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES

- Uso estricto para diagnósticos *in vitro*.
- No administrar oralmente con pipeta.
- No comer, tomar o fumar en áreas designadas para trabajo.
- Lavarse muy bien las manos tras manipular la muestra.
- Interferencia HAMA: Algunas personas tiene anticuerpos a las proteínas murinas (HAMA), lo cual pueden causar interferencia en Inmunoensayos que utilizan anticuerpos de origen murino⁶.
- Los reactivos contenidos en FastPack® IP y FastPack® son estables hasta la fecha indicada de caducidad siempre y cuando se conserven y se manipulen de conformidad a las instrucciones. No utilizar los reactivos de FastPack® IP y FastPack® más allá de la fecha de caducidad.
- Deseche los FastPacks usados en contenedores para residuos biológicos.
- Los componentes que contiene azida de sodio son clasificados conforme a las directrices correspondientes de la Comunidad Económica Europea (CEE) como: Altamente tóxicos y perjudiciales para el ambiente (T+N). Las siguientes son indicaciones pertinentes sobre el riesgo (R) y la seguridad(S):

R28	Es nocivo en caso de ingestión
R32	Al contacto con ácidos se liberan gases altamente tóxicos
R50/53	Altamente tóxico a organismos acuáticos. Podrá causar efectos adversos a largo plazo al ambiente acuático.
S28	En caso de contacto con la piel, lavarse inmediatamente con agua y jabón
S45	En caso de accidente o si no se siente bien, busque inmediatamente consejo médico (mostrar la etiqueta si es posible).
S60	Este material, así como sus contenedores, deberán ser descartados en recipientes de desechos biológicos.
S61	No desecharse al medio ambiente. Referirse a las instrucciones especiales/especificaciones técnicas.

- Los componentes que contienen Proclin 150 son clasificados por las normas de La Comunidad Económica Europea (CEE) como: Corrosivas (C). Las siguientes son indicaciones pertinentes sobre el riesgo (R) y la seguridad (S) para Proclin 150:

R34	Causa quemaduras.
R43	Puede causar sensibilidad al contacto con la piel.
S26	En caso de contacto en los ojos, lávese inmediatamente con agua y busque ayuda médica.
S36/37/39	Vestir ropa y, guantes adecuados, así como protección para los ojos/cara.
S45	En caso de accidente o si no se siente bien, busque inmediatamente consejo médico (mostrar la etiqueta si es posible).

INSTRUCCIONES DE CONSERVACIÓN

Conservarse a 2 - 8° C. Protéjase de la luz.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE ESPECÍMENES

1. El Inmunoensayo FastPack® IP y FastPack® T₄ libre puede utilizarse para analizar muestras de suero.
2. El National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCL) emite recomendaciones para el manejo, para la manipulación, el procesamiento y la conservación de la sangre ^{4,5}.
3. Recolecte todas las muestras de sangre observando las precauciones rutinarias de venopunción.
4. Para las muestras de suero:
 - Recolecte las muestras en tubos apropiados para la recolección de suero.
 - Asegurarse de que la coagulación sea antes de proceder a la centrifugación esto toma aproximadamente 30 minutos. Algunos especímenes muestran un tiempo de coagulación prolongado particularmente las de pacientes sometidos a terapias anticoagulantes o trombolíticas.

- El suero deberá ser centrifugado y separado del coagulo dentro de las 3 horas después de la recolección.
 - Separar el suero de las células antes de conservarlo a una temperatura de 2–8° C.
 - Si no se analiza dentro de las 24 horas, la muestra debe ser congelada a –20° C o inferior.
5. No congelar las muestras (–20° C) más de dos meses.
 6. Antes de usar las muestras congeladas deben descongelarse totalmente y mezclarse por inversión suave.
 7. Para obtener resultados óptimos, las muestras no deben contener fibrina, glóbulos rojos, u otros materiales particulados.
 8. Las muestras que exhiban turbidez y/o material particulado deben centrifugarse antes de usarlas.
 9. Asegurarse de que las muestras no tengan burbujas.
 10. Las muestras humanas deben manipularse de conformidad con la norma de OSHA para Patógenos de la Sangre.⁷

PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

Vea el Manual de Procedimiento del Sistema FastPack® IP para obtener información sobre el uso de dicho sistema.

INSTRUMENTACIÓN

Sistema FastPack® IP

DETALLES DE CALIBRACIÓN

Durante el proceso de producción de FastPack® IP y FastPack®, Qualigen genera una curva maestra estándar y coloca esta información, en forma de código de barras, en cada etiqueta de FastPack® IP y FastPack®, donde puede ser leída por el analizador FastPack® IP durante la secuencia de análisis. El usuario debe calibrar el analizador FastPack® IP para asegurarse de que esté bien ajustado para el lote concreto de FastPacks que está utilizando. La frecuencia de calibración varía para cada tipo de análisis. Para el Inmunoensayo de FastPack® IP y FastPack® T₄ libre, el analizador FastPack® IP debe calibrarse una vez cada 14 días, o cada vez que se va a utilizar un Nuevo lote de FastPacks de T₄ libre.

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 se realiza la recalibración con el mismo lote de FastPacks y calibrador, tiene que usar 2 FastPacks. Vea “Cómo realizar una calibración” en el Manual de procedimientos del Sistema FastPack® IP.

Utilice el Kit Calibrador FastPack® T₄ libre – Núm. de catálogo 25000016

RESULTADOS

El analizador FastPack® utiliza la información del código de barras en la etiqueta para construir una tabla “lookup” de valores x, y que representan la curva estándar y así estimar la concentración desconocida en la muestra a través de interpolación lineal.

CONTROL DE CALIDAD

Los materiales de control de calidad simulan especímenes reales y son esenciales en el monitoreo del correcto funcionamiento de los ensayos. Las Buenas Prácticas Laboratorio (GLP) incluye el uso de muestras de control para asegurar que todos los reactivos y protocolos estén funcionando correctamente. Los productos de control comerciales que contiene Ft₄ se encuentran disponibles. Revisar el Manual de Procedimiento del Sistema FastPack® IP, sección “Cómo ejecutar los controles”.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Las muestras pueden medirse dentro del rango reportable de la sensibilidad analítica y el rango superior de calibración de 6 ng/dL.
- Las muestras >6 ng/dL deberán reportarse como tal o ser procesadas utilizando otro método. No se recomienda diluir las muestras fuera de rango.
- Las muestras de pacientes que hayan recibido infusiones que contengan anticuerpos monoclonales murinos con fines diagnósticos o terapéuticos, pueden contener anticuerpos humanos antimurinos (HAMA). Dichos especímenes pueden indicar valores falsamente elevados o valores suprimidos al ser analizados con kits que emplean anticuerpos monoclonales de origen murino.
- La presencia de anticuerpos heterofílicos en la muestra pueden causar interferencia en los sistemas de Inmunoensayos. Infrecuentemente, los niveles de FT₄ pueden aparecer elevados debido a los anticuerpos heterofílicos presente en suero del paciente o debido a la ligazón de proteínas no específicas. Si el nivel de FT₄ es inconsistente con la evidencia clínica entonces se recomiendan pruebas adicionales para confirmar el resultado.
- Para el propósito de diagnóstico, los resultados del Inmunoensayo de Fastpack® IP FT₄ y FastPack® FT₄ deben ser evaluados en conjunto con la historia médica del paciente, exámenes clínicos e información médica adicional relevante.

RANGO ESPERADO

Muestras de suero fueron obtenidas de 207 donadores (99 varones y 108 mujeres). Las muestras fueron obtenidas de donadores de sangre normales y sanos sin ninguna indicación de anormalidades clínicas. Los niveles de FT₄ fueron analizados utilizando el Inmunoensayo FastPack® IP and FastPack® T₄ libre en conjunción con el analizador FastPack® IP para así establecer la concentración de FT₄ en la población normal. Basándose en esta información el rango normal para el Inmunoensayo FastPack® IP and FastPack® T₄ libre es 0,5 – 1,4 ng/dL. El rango esperado refleja el 95% del Intervalo de Confidencia apropiado para dicha población. Cada laboratorio deberá determinar su propio rango de referencia apropiado para su población.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO

Precisión

La reproducibilidad del Inmunoensayo de FT₄ fue analizada utilizando muestras de 2 pacientes por duplicado (n=54, por cada muestra) por diez días usando tres analizadores y dos lotes de reactivos. La Precisión se expresa como el Coeficiente de Variación.

Muestra	Media (ng/dL)	Entre Pruebas CV%	Entre Analizadores CV%	Entre lotes de Reactivos CV%	TOTAL de CV%
1	1,43	7,4	2,8	11,1	11,5
2	3,51	6,2	1,8	4,8	7,2

Método de Comparación

Muestras clínicas fueron utilizadas para comparar los valores de suero obtenidos usando el método de FastPack® IP y FastPack® FT₄ y el método Abbott IMx Free T₄. Los valores fueron evaluados por concordancia usando el análisis de regresión de Deming. La correlación Pearson fue utilizada para probar la asociación entre los valores.

n	Rango de Observación (ng/dL)	Intersección (ng/dL)	Pendiente	r
131	0,41 a 5,93	-0,169	1,07	0,95

Sustancias Interferentes

Se añadieron sustancias interferentes a pools de suero que contenían cantidades conocidas de FT₄. El valor obtenido para el pool de suero con cada sustancia interferente se comparó con el valor obtenido para el pool de suero sin dicha sustancia interferente. Estos compuestos no indicaron interferencia a los niveles indicados.

Compuesto a Prueba	Concentración a Prueba
Bilirrubina	40 mg/dL
Hemoglobina	1,000 mg/dL
Triglicéridos	1,000 mg/dL

Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica de FT₄ es 0,4 ng/dL. Este valor se interpoló a partir de la curva dosis-respuesta que era menos dos desviaciones estándar por debajo del valor medio de la señal cero del calibrador (n >10/analizador/lote).

Especificidad

La reactividad cruzada del anticuerpo utilizado en el Inmunoensayo de FastPack® IP y FastPack® T₄ libre demostró ser < 1% para L-T₃.

REFERENCIAS

- 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.



MDSS
Schiffara



Koncentrace volného T₄ (FT₄) v daném vzorku určená analýzami různých výrobců se může lišit v důsledku analyzačních metod a specifity činidel. Výsledky oznámené laboratoří lékaři musí zahrnovat identitu použité metody analýzy volného T₄. Hodnoty získané různými metody analýzy by neměly být vzájemně zaměňované.

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 objednávky.

ZAMÝŠLENÝ ÚČEL

Imunoanalýza FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ je imunoanalýza paramagnetických částic pro kvantitativní *in vitro* stanovení FT₄ v lidském séru. Imunoanalýza FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ je určena pro použití se systémem FastPack® IP.

SOUHRN

Thyroidní hormon, tyroxin (T₄), je vylučován ze štítné žlázy umístěné v krku. Thyroidní hormon je nezbytný pro růst, vývoj a pohlavní dospívání. T₄ ovlivňuje metabolickou činnost v mnoha tkáních, která vede ke zvýšené spotřebě kyslíku a stimulaci mitochondriálního dýchání¹. Dále účinek T₄ zahrnuje 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 β-adrenergických receptorů na katecholaminy. Tyto účinky jsou obvykle zesilovány u pacientů s hypertyreózou a minimalizovány u pacientů s hypotyreózou².

T₄ v oběhovém systému je reverzibilně a téměř zcela vázán na nosných proteinech (globulin vázající T₄, prealbumin vázající T₄ a albumin). Pouze přibližně 0,03 % T₄ není vázáno nebo je volných. Veškerá biologická aktivita je spojena s volnou formou tohoto hormonu (volný T₄). Velká koncentrace hormonu vázaného na proteiny funguje jako zásobárna T₄ a udržuje konstantní koncentraci volného T₄. Velké odchylky koncentrací těchto proteinů a celkové hladiny T₄ u normálních (euthyroidních) jednotlivců jsou tlumeny tím, že je aktivní, volná forma hormonu jen malým zlomkem celkového množství. Měření hladiny volného T₄ je důležitá při diagnostice přebytku nebo nedostatku hormonu.

Měření volného T₄ se tradičně provádělo nepřímými prostředky. Pomocí analýzy celkového T₄ ve spojení s mírou vychytávání tyroxinu (TU), lze získat index volného tyroxinu (FTI)³, který je nepřímo úměrný hodnotě FT₄. Přímé určení využívá rovnovážnou dialýzu, ultrafiltraci, RIA a EIA v pevné fázi se používá pro stanovení hladin FT₄.

Imunoanalýza FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ je založena na principu konkurenční imunoanalýzy: volný T₄ ve vzorku (kontrolní roztok nebo vzorek pacienta) soutěží s T₃ kovalentně vázaným na paramagnetické částice v pevné fázi o monoklonální protilátce anti-T₄ značenou alkalickou fosfatázou. Množství této značené protilátky anti-T₄ vázané na magnetické částice je inverzně úměrné koncentraci FT₄ ve vzorku.

ZKUŠEBNÍ PRINCIP

Imunoanalýza FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ je konkurenční chemiluminiscenční analýza.

- Primární inkubace: Roztok protilátky (roztok tlumivého roztoku s obsahem monoklonální protilátky anti-tyroxin (T₄) označené alkalickou fosfatázou) [100 μl] reaguje s volným T₄ ze vzorku pacienta, kontrolního roztoku nebo kalibračního roztoku [100 μl].
- Sekundární inkubace: Reakční směs je přidána k paramagnetickým částicím pokrytým streptavidinem s navázaným triiodotyronin(T₃)-biotinem na svém povrchu. Během této inkubace soutěží částice s navázaným T₃ s volným T₄ ve vzorku.
- Odstranění nenavázaných materiálů: Paramagnetické částice jsou opláchnuty promývacím tlumivým roztokem [0,2 ml/promytí] pro odstranění nenavázaných materiálů.
- Přidání substrátu a detekce: K pevnému komplexu je přidán chemiluminogenní substrát [140 μl] a výsledkem je „zřetelná“ chemiluminiscence, která se změří analyzátozem FastPack® IP.
- Množství vázané značené protilátky je inverzně úměrné koncentraci FT₄ ve vzorku.

ČINIDLA – obsah a koncentrace

Každá krabička FastPack® IP obsahuje:

- 30 ks FastPack® IP

Každá krabička FastPack® obsahuje:

- 50 ks FastPack

Každý FastPack® IP nebo FastPack® obsahuje:

- Paramagnetické částice, 150 µl
- Paramagnetické částice pokryté streptavidinem s vázaným T₃-biotinem v tlumivém roztoku obsahujícím 0,1 % azid sodný jako konzervační prostředek.
- Roztok protilátky T₄, 100 µl
- Roztok protilátky obsahující myší monoklonální protilátku anti-T₄ označenou alkalickou fosfatázou na 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
- Sada kalibračních roztoků FastPack® pro volný T₄ – kat. č. 25000016
- Sada kontrolních roztoků FastPack® – kat. č. 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 myší protein (HAMA), které mohou způsobit rušení u imunoanalýz využívajících protilátku odvozené od myších⁶.
- Činidla FastPack® IP a FastPack® jsou stabilní až do data expirace na štítku, pokud jsou uloženy a nakládá se s nimi podle pokynů. Nepoužívejte činidla FastPack® IP a FastPack® po datu expirace.
- Použité FastPack® IP 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). Platí následující rizikové (R) a bezpečnostní (S) věty:

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	V případě 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	Zabraňte uvolnění do životního prostředí. Viz speciální pokyny nebo bezpečnostní listy.

- Složky obsahující Proclin 150 jsou příslušnými směrnici Evropské unie (EU) klasifikovány jako: žíravé (C). Pro Proclin 150 platí následující rizikové (R) a bezpečnostní (S) věty:

R34	Dráždí kůži.
R43	Může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží.
S26	Při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc.
S36/37/39	Používejte vhodný ochranný oděv, ochranné rukavice a ochranné brýle nebo obličejový štít.
S45	V případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte toto označení).

POKYNY PRO SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2 – 8 °C. Chraňte před světlem.

ODBĚR A PŘÍPRAV VZORKŮ

1. Pro imunoanalýzu FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ lze použít sérové vzorky.
2. Národní komise pro klinické laboratorní standardy (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) poskytuje doporučení pro zacházení, zpracování a ukládání krve.^{4,5}
3. Všechny vzorky krve odebírejte za dodržení běžných bezpečnostních zásad odběru krve.
4. Sérové vzorky:
 - Odeberte vzorky do odběrných zkumavek na krev.
 - Před odstředěním ověřte, 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 odstředěno během 3 hodin po odběru.

- Před uložením oddělte sérum od buněk a uložte při teplotě 2–8 °C.
 - Pokud není testován během 24 hodin, měl by být vzorek zmrazen při –20 °C nebo nižší teplotě.
5. Nezmrazujte vzorky (–20 °C) na více než dva měsíce.
 6. Zmrazené vzorky by měly být před použitím zcela rozmrazeny a promíchány opatrným převrácením.
 7. Pro dosažení optimálních výsledků by vzorky neměly obsahovat fibrin, červené krvinky nebo jiné částice.
 8. Sérové vzorky vykazující zákal a stopy částicového materiálu je třeba před použitím odstředit.
 9. Zkontrolujte, že vzorky neobsahují bubliny.
 10. S lidskými vzorky je třeba nakládat v souladu s normou OSHA pro patogeny přenosné krví.⁷

POSTUP ANALÝZY

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

PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ

Systém FastPack® IP

PODROBNOSTI O KALIBRACI

Během výrobního procesu FastPack® IP a FastPack® připravuje společnost Qualigen hlavní standardní křivku a ukládá tuto informaci na čárový 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 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 volný T₄. Četnost kalibrace se liší pro každý typ testu. Pro imunoanalýzu FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ musí být analyzátor FastPack® IP kalibrován jednou za 14 dní nebo před každým použitím nové šarže balení T₄ FastPack.

Kdykoli uživatel provádí počáteční kalibraci pro konkrétní šarži FastPack nebo využívá novou šarži kalibračních roztoků, je třeba pro kalibraci analyzovat 2 ks FastPack (duplicitně). Kdykoli je prováděna rekaliibrace se stejnou šarží FastPack a kalibračním roztokem, 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® pro volný T₄ – kat. č. 25000016

VÝSLEDKY

Analyzátor FastPack® IP využívá informace z čárového 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. K dispozici jsou komerčně dostupné produkty s obsahem FT₄. Viz návod k postupu pro systém FastPack® IP v části „Provádění kontrol“.

OMEZENÍ POSTUPU

- Vzorky lze měřit ve zdokumentovaném rozsahu analytické citlivosti a horní hodnoty kalibračního rozhraní 6 ng/dl.
- Vzorky >6 ng/dl je třeba vykázat jako takové, nebo použít jinou metodu. Ředění vzorků s výsledky mimo rozsah se nedoporučuje.
- 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 analyzační sadou používající myší monoklonální protilátky.
- Heterofilní protilátky ve vzorky mají potenciál způsobit rušení systémů imunoanalýzy. Ve vzácných případech se mohou hladiny FT₄ jevit jako zvýšené v důsledku heterofilních protilátek přítomných v séru pacienta nebo nescifického vázání bílkovin. Pokud je hladina FT₄ nekonzistentní s klinickým nálezem, doporučuje se pro ověření výsledku provést další zkoušení FT₄.
- Pro diagnostické účely by měla být imunoanalýza FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ vždy posuzována ve spojení se zdravotní anamnézou pacienta, klinickým vyšetřením a dalšími nálezy.

OČEKÁVANÝ ROZSAH

Byly získány sérové vzorky od 207 jedinců (99 mužů a 108 žen). Vzorky byly získány od normálních dárců se zdravou krví bez jakýchkoli klinicky abnormálních indikací. Hladiny FT₄ byly určeny imunoanalýzou FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ ve spojení s analyzátozem FastPack® IP s cílem určit koncentraci FT₄ u normální populace. Na základě těchto dat je pro imunoanalýzu FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ očekávaný normální rozsah 0,5 – 1,4 ng/dl. Tento očekávaný rozsah odráží 95 % interval spolehlivosti dárcovské populace v této studované skupině. Každá laboratoř by měla určit vlastní referenční rozsah vhodný pro jejich populaci.

SPECIFICKÉ VÝKONOVÉ CHARAKTERISTIKY

Přesnost

Reprodukovatelnost analýzy FT₄ byla měřena u vzorků 2 pacientů duplicitně (n=54, pro každý vzorek) v průběhu deseti dní za použití třech analyzátorů a dvou šarží činidel. Přesnost je vyjádřena jako variační koeficient.

Vzorek	Průměr (ng/dl)	Mezi stanoveními % CV	Mezi analyzátory % CV	Mezi šaržemi činidel % CV	CELKOVÉ % CV
1	1,43	7,4	2,8	11,1	11,5
2	3,51	6,2	1,8	4,8	7,2

Srovnání metod

Pro srovnání sérových hodnot získaných pomocí metody FastPack® IP a FastPack® FT₄ a metodou Abbott IMx pro volný T₄ byly použity klinické vzorky. Shoda hodnot byla zhodnocena Demingovou regresní analýzou. Pearsonova korelace se použila pro otestování asociace mezi těmito hodnotami.

n	Rozsah pozorování (ng/dl)	Průsečík (ng/dl)	Sklon	r
131	0,41 až 5,93	-0,169	1,07	0,95

Rušící látky

K sérovým vzorkům obsahujícím známá množství FT₄ byly přidány rušící látky. Hodnota získaná pro každé sérum s rušící látkou byla srovnána s hodnotou získanou pro sérum bez rušící látky. Tyto sloučeniny nevykázaly rušení na indikovaných úrovních.

Testovaná látka	Testovaná koncentrace
Bilirubin	40 mg/dl
Hemoglobin	1 000 mg/dl
Triglyceridy	1 000 mg/dl

Analytická citlivost

Analytická citlivost FT₄ je 0,4 ng FT₄/dl. Tato hodnota byla interpolována z křivky odezvy na dávku, které byla minus dvě směrodatné odchylky pod průměrem nulového signálu kalibračního roztoku (n >10/analyzátor/šarže).

Specifická

Křížová reaktivita protilátek použitých v analýze FastPack® IP a FastPack® pro volný T₄ byla zjištěna < 1 % pro L-T₃.

ODKAZY

- 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



MDSS
Schiffara

