

REF



SYSTEM

07976887190

07976887500

300

cobas e 801

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
FT4 3	10160

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione quantitativa *in vitro* della tiroxina libera nel siero e nel plasma umani.

L'esecuzione dell'ImmunoAssay in ElettroChemiLuminescenza "ECLIA" è destinata all'uso sull'immunoanalizzatore **cobas e 801**.

Sommario

La tiroxina (T4) è l'ormone tiroideo principale, secreto nel sangue dalla tiroide. Insieme alla triiodotironina (T3) svolge un ruolo essenziale nella regolazione del metabolismo dell'organismo, influenza il sistema cardiovascolare, la crescita ed il metabolismo osseo, ed è importante per lo sviluppo normale delle funzioni gonadiche e del sistema nervoso.¹

La T4 circola nel sangue come miscela in equilibrio tra ormone libero e ormone legato alle proteine del siero. La T4 libera (FT4) rappresenta la forma non legata e biologicamente attiva, pari al solo 0.03 % della T4 totale. La T4 rimanente è inattiva e legata alle proteine sieriche quali la globulina legante la tiroxina (*thyroxine-binding globulin*: TBG) (75 %), la prealbumina (15 %) e l'albumina (10 %).^{2,3,4,5}

La determinazione della T4 libera comporta il vantaggio di essere indipendente dalle variazioni della concentrazione e delle caratteristiche leganti delle proteine di legame; non è più necessaria, quindi, la determinazione di un ulteriore parametro di legame (T-uptake, TBG). Per questo motivo la T4 libera è un utile strumento nella diagnostica clinica di routine per la valutazione dello stato della tiroide. Deve essere misurata insieme al TSH in caso di presunte disfunzioni tiroidee, e si presta anche al monitoraggio dei pazienti in terapia con farmaci tireosoppressivi.^{1,6,7}

Sono disponibili vari metodi per la determinazione dei livelli di ormoni tiroidei liberi. La misurazione diretta dell'FT4 e dell'FT3 con la dialisi all'equilibrio o con ultrafiltrazione serve sostanzialmente come metodo di riferimento per la standardizzazione dei procedimenti immunologici impiegati prevalentemente nella diagnostica di routine.^{6,7}

Per la determinazione della tiroxina libera con il test Elecsys FT4 III viene utilizzato un anticorpo specifico anti-T4, marcato con un complesso di rutenio^{a)}.

a) Complesso di rutenio (II) tris(2,2'-bipiridile) (Ru(bpy)₃²⁺)

Principio del test

Principio di competizione. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: 9 µL di campione e un anticorpo specifico anti-T4, marcato con un complesso di rutenio.
- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di T4 biotinilata e di microparticelle rivestite di streptavidina, vengono occupati i siti di legame ancora liberi dell'anticorpo marcato, con formazione di un complesso anticorpo-aptene. Il complesso totale si lega alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.
- La miscela di reazione viene aspirata nella cella di misura dove le microparticelle vengono attratte magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Successivamente si eliminano le sostanze non legate impiegando ProCell II M. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione chemiluminescente che viene misurata mediante il fotomoltiplicatore.
- I risultati vengono calcolati in base ad una curva di calibrazione, che viene generata in modo specifico per lo strumento con una calibrazione a 2 punti e con una curva master fornita tramite **cobas link**.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

Il **cobas e** pack è contrassegnato con FT4 3.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 fialone, 13.2 mL:
microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.

- R1 Anticorpi anti-T4-Ru(bpy)₃²⁺, 1 fialone, 19.7 mL:
anticorpo (pecora) policlonale anti-T4 marcato con un complesso di rutenio 75 ng/mL; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 7.0; conservante.
- R2 T4-biotina, 1 fialone, 19.7 mL:
T4 biotinilata 2.5 ng/mL; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 7.0; conservante.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reattivi di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali. Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

2-methyl-2H-isothiazol-3-one hydrochloride

EUH 208 Può provocare una reazione allergica.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

I reattivi contenuti nella confezione formano un'unità inseparabile e sono pronti all'uso.

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas link**.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Non congelare.

Conservare il **cobas e** pack in **posizione verticale** in modo da garantire la completa disponibilità delle microparticelle durante il mescolamento automatico prima dell'uso.

Stabilità:	
prima dell'apertura a 2-8 °C	fino alla data di scadenza indicata
sull'analizzatore cobas e 801	16 settimane

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero, prelevato con provette standard per prelievi di campioni o con provette contenenti gel di separazione.

Plasma con litio eparina, K₂-EDTA e K₃-EDTA.

È possibile impiegare provette per plasma che contengono gel di separazione.

Valutazione: slope 0.9-1.1 + intercetta entro ≤ ±0.6 pmol/L + coefficiente di correlazione ≥ 0.95.

Stabilità: 5 giorni a 20-25 °C, 7 giorni a 2-8 °C, 30 giorni a -20 °C (± 5 °C). Congelare solo 1 volta.

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Non impiegare campioni inattivati a caldo.

Non impiegare campioni e controlli stabilizzati con azide.

Assicurarsi che i campioni ed i calibratori al momento della misura siano alla temperatura di 20-25 °C.

Per evitare un'eventuale evaporazione, analizzare/misurare i campioni e calibratori che si trovano sugli analizzatori entro 2 ore.

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 07976879190, CalSet FT4 III, 4 x 1.0 mL
- [REF] 11731416190, PreciControl Universal, per 4 x 3.0 mL
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Analizzatore **cobas e 801**

Altri materiali per l'analizzatore **cobas e 801**:

- [REF] 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L di soluzione di sistema
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura
- [REF] 07485409001, Reservoir Cup, 8 coppette per la fornitura di ProCell II M e CleanCell M
- [REF] 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio
- [REF] 05694302001, Assay Tip/Assay Cup tray, 6 pile da 6 supporti, ciascuno contenente 105 puntali e 105 cuvette per il test, 3 scatole di cartone per rifiuti
- [REF] 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 coppette adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- [REF] 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 coppetta adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- [REF] 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL di soluzione di lavaggio per il sistema

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

La risospensione delle microparticelle prima dell'uso avrà luogo automaticamente.

Collocare il **cobas e** pack refrigerato (conservato a 2-8 °C) sul reagent manager. Evitare la formazione di schiuma. La regolazione della temperatura esatta dei reattivi nonché l'apertura e la chiusura del **cobas e** pack avranno luogo automaticamente nello strumento.

Calibrazione

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro il metodo Elecsys FT4 II. Il test Elecsys FT4 III è tracciabile all'Enzymun-Test FT4, il quale è stato standardizzato con la dialisi all'equilibrio.^{5,6}

La curva master preimpostata viene adattata all'analizzatore impiegando l'appropriato CalSet.

Frequenza di calibrazione: effettuare una calibrazione per ogni lotto di reattivo con reattivo fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione del **cobas e** pack sull'analizzatore).

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Si consiglia di ripetere la calibrazione come segue:

- dopo 12 settimane se si impiega lo stesso lotto di reagente
- dopo 28 giorni se si impiega lo stesso **cobas e** pack sull'analizzatore
- all'occorrenza: ad es. se un controllo di qualità si trova al di fuori dei limiti definiti

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl Universal.

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

I controlli per le diverse concentrazioni devono essere eseguiti individualmente almeno 1 volta ogni 24 ore quando il test è in uso, al cambio di ogni **cobas e** pack e dopo ogni calibrazione.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Se necessario, va ripetuta la misura dei corrispondenti campioni.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

L'analizzatore effettua il calcolo automatico della concentrazione dell'analita di ogni campione in pmol/L, in ng/dL oppure in ng/L.

$$\begin{aligned} \text{Fattori di conversione: } & \text{pmol/L} \times 0.077688 = \text{ng/dL} \\ & \text{ng/dL} \times 12.872 = \text{pmol/L} \\ & \text{pmol/L} \times 0.77688 = \text{ng/L} \end{aligned}$$

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Testando le interferenze fino alle concentrazioni elencate, non è stata osservata alcuna influenza sui risultati.

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione testata
Bilirubina	≤701 μmol/L oppure ≤41 mg/dL
Emoglobina	≤0.621 mmol/L oppure ≤1000 mg/dL
Intralipid	≤2000 mg/dL
Biotina	≤409 nmol/L oppure ≤100 ng/mL
Fattori reumatoidi	≤1200 IU/mL
IgG	≤7 g/dL
IgA	≤1.6 g/dL
IgM	≤1 g/dL

Criterio di valutazione: recupero di ± 0.6 pmol/L del valore iniziale ≤ 6 pmol/L e di ± 10 % del valore iniziale > 6 pmol/L.

Ai pazienti sottoposti a terapia con alti dosaggi di biotina (>5 mg/die), il campione dovrà essere prelevato almeno 8 ore dopo l'ultima somministrazione di biotina.

Tutte le eventuali interferenze sul comportamento legante delle proteine di legame possono provocare risultati alterati nei test per l'FT4 (ad es. farmaci/droghe, NTI (*Non-Thyroid Illness*: malattie non tiroidee) o pazienti affetti dall'FDH (*Familial Dysalbuminemic Hyperthyroxinemia*: ipertiroxinemia disalbuminemia familiare)).^{9,10}

Questo test non può essere utilizzato per i pazienti sottoposti a terapia con ipolipemizzanti contenenti D-T4. Per esaminare la funzionalità tiroidea di tali pazienti, è consigliabile per prima cosa interrompere la terapia per 4-6 settimane, allo scopo di riportare i livelli a condizioni fisiologiche.¹¹

Gli autoanticorpi contro gli ormoni tiroidei possono interferire con il test.⁷

Sostanze farmaceutiche

15 farmaci di frequente impiego sono stati testati *in vitro*. Non è stata riscontrata alcuna interferenza con il test.

Inoltre, sono stati testati i seguenti farmaci antitiroidei speciali. Non è stata riscontrata alcuna interferenza con il test.

Farmaci antitiroidei speciali

Farmaco	Concentrazione testata μg/mL
Ioduro	0.2
Carbimazolo	6
Tiamazolo	80
Propiltiouracile	300
Perclorato	2000
Propranololo	240
Amiodarone	200

Farmaco	Concentrazione testata µg/mL
Prednisolone	100
Idrocortisone	200
Flucortolone	100
Octreotide	0.3

Negli studi su farmaci testati *in vitro*, la furosemide e la levotiroxina a dosaggio terapeutico giornaliero hanno provocato valori di FT4 elevati.

Le interferenze da farmaci vengono misurate in base alle raccomandazioni contenute nelle linee guida EP07 e EP37 del CLSI e presenti in letteratura. Gli effetti causati dalle concentrazioni superiori a queste raccomandazioni non sono stati caratterizzati.

Per il comune fenilbutazone farmaceutico, non è stata osservata alcuna interferenza per le concentrazioni ≤ 100 µg/mL.

In casi rari possono riscontrarsi interferenze causate da titoli estremamente alti di anticorpi diretti contro anticorpi specifici anti-analita, di anticorpi anti-streptavidina o di anticorpi anti-rutenio. Tali effetti sono ridotti al minimo attraverso un procedimento appropriato del test.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

0.5-100 pmol/L (definito dal limite di sensibilità e dal massimo valore della curva master). I valori al di sotto del limite di sensibilità vengono indicati come <0.5 pmol/L. I valori al di sopra dell'intervallo di misura vengono indicati come >100 pmol/L.

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco, limite di sensibilità e limite di quantificazione

Limite del bianco = 0.3 pmol/L

Limite di sensibilità = 0.5 pmol/L

Limite di quantificazione = 1.3 pmol/L

Il limite del bianco, il limite di sensibilità ed il limite di quantificazione sono stati determinati in conformità ai requisiti EP17-A2 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

Il limite del bianco corrisponde al valore del 95° percentile ottenuto in $n \geq 60$ misurazioni di campioni privi di analiti in varie serie indipendenti l'una dall'altra. Il limite del bianco corrisponde alla concentrazione al di sotto della quale si riscontrano campioni privi di analiti con una probabilità del 95 %.

Il limite di sensibilità viene determinato in base al limite del bianco e alla deviazione standard dei campioni con concentrazioni basse. Il limite di sensibilità corrisponde alla concentrazione minima dell'analita che può essere rilevata (valore superiore al limite del bianco con una probabilità del 95 %).

Il limite di quantificazione rappresenta la concentrazione minima dell'analita che può essere misurata in modo riproducibile con un CV della precisione intermedia ≤ 20 %.

Diluizione

I campioni per la determinazione dell'FT4 non possono essere diluiti, dato che la T4 nel sangue si trova in una situazione di equilibrio tra forma libera e forma legata a proteine. Ogni cambiamento nella concentrazione delle proteine leganti modificherà questo rapporto di equilibrio.

Valori di riferimento

Eutiroideo: 12-22 pmol/L (0.93-1.7 ng/dL)

Questi valori corrispondono al 2.5° e al 97.5° percentile dei risultati ottenuti con i campioni prelevati da un totale di 801 soggetti sani esaminati.

Stato: intervallo di riferimento dell'MCE per la tiroide, 1° trimestre 1998.

Per ulteriori informazioni relative agli intervalli di riferimento nei bambini, adolescenti e nelle donne in gravidanza, consultare il fascicolo "Reference Intervals for Children and Adults"; inglese: [REF] 04640292.

Tale fascicolo contiene anche risultati di uno studio dettagliato sui fattori che influenzano i parametri tiroidei, condotto in un gruppo di riferimento di adulti ben caratterizzato. Sono stati applicati differenti criteri di inclusione ed esclusione (ad es. risultati sonografici (volume e densità del tessuto

tiroideo) nonché criteri conformi alle linee guida della *National Academy of Clinical Biochemistry* – NACB).

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sull'analizzatore. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata impiegando reattivi Elecsys, campioni e controlli, eseguiti in base ad un protocollo (EP05-A3) del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*): 2 serie al giorno, ciascuna in duplicato, per 21 giorni ($n = 84$). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Analizzatore cobas e 801					
Campione	Media pmol/L	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS pmol/L	CV %	DS pmol/L	CV %
Siero umano 1	1.61	0.103	6.4	0.131	8.1
Siero umano 2	12.9	0.306	2.4	0.338	2.6
Siero umano 3	22.6	0.496	2.2	0.535	2.4
Siero umano 4	54.1	0.792	1.5	1.36	2.5
Siero umano 5	90.9	2.34	2.6	3.29	3.6
PreciControl U ^{b)} 1	15.4	0.365	2.4	0.398	2.6
PreciControl U 2	39.8	0.789	2.0	0.846	2.1

b) U = Universal

Confronto tra metodi

Il confronto del test Elecsys FT4 III, [REF] 07976887190 (analizzatore cobas e 801; y), con il test Elecsys FT4 III, [REF] 07976836190 (analizzatore cobas e 601; x), ha prodotto le seguenti correlazioni (pmol/L):

Numero dei campioni misurati: 150

Passing/Bablok¹²

$$y = 1.02x - 0.326$$

$$r = 0.962$$

Regressione lineare

$$y = 1.02x - 0.361$$

$$r = 0.998$$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 2 e 86 pmol/L.

Specificità analitica

Sono state riscontrate le seguenti reazioni crociate, testate con concentrazioni di FT4 di ca. 13 pmol/L e 39 pmol/L:

Reattante che provoca reazioni crociate	Concentrazione testata ng/dL	Reattività crociata %
L-T3	50000	0.005
D-T3	50000	0.002
rT3	190000	0.007
3-Iodo-L-tirosina	10000000	0.000
3,5-Diiodo-L-tirosina	10000000	0.000
Acido 3,3',5'-triiodotiroacetico	100000	0.000
Acido 3,3',5',5'-tetraiodotiroacetico	100000	0.001

Letteratura

- Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, et al. *Williams Textbook of Endocrinology*. Saunders Elsevier, Philadelphia, 12th edition, 2011, chapter 10, p. 301-311.
- Robbins J, Rall JE. The interaction of thyroid hormones and protein in biological fluids. *Recent Prog Horm Res* 1957;13:161-208.

- 3 Oppenheimer JH. Role of plasma proteins in the binding, distribution and metabolism of the thyroid hormones. *N Engl J Med* 1968;278(21):1153-1162.
- 4 DeGroot LJ, Larsen PR, Hennemann G. Transport of thyroid hormone and cell uptake. *The thyroid and its diseases*. Wiley and Sons, New York, 1984:62-65.
- 5 Ekins RP. Measurement of free hormones in blood. *Endocr Rev* 1990;11(1):5-46.
- 6 Wu AHB. *Tietz Clinical Guide To Laboratory Tests*. Saunders Elsevier, Philadelphia, 4th edition, 2006, section II, p. 1046-1048.
- 7 Brent GA. *Thyroid Function Testing*. Springer, Berlin, 1st edition, 2010, chapter 5, p. 86-101.
- 8 Ekins RP, Ellis SM. The radioimmunoassay of free thyroid hormones in serum. In Robbins J, Braverman LE (eds). *Thyroid research, Proceedings of the Seventh International Thyroid Conference*, Boston. Amsterdam, Excerpta Medica 1975:597.
- 9 Wada N, Chiba H, Shimizu C, et al. A novel missense mutation in codon 218 of the albumin gene in a distinct phenotype of familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia in a Japanese kindred. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(10):3246-3250.
- 10 Arevalo G. Prevalence of familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia in serum samples received for thyroid testing. *Clin Chem* 1991;37(8):1430-1431.
- 11 Bantle JP, Hunninghake DB, Frantz ID, et al. Comparison of effectiveness of thyrotropin-suppressive doses of D- and L-thyroxine in treatment of hypercholesterolemia. *Am J Med* 1984;77(3):475-481.
- 12 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore, i rispettivi fogli di applicazione, la Product Information e le metodiche di tutti i componenti necessari (se disponibili nel vostro paese).

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog.roche.com):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reattivo
	Calibratore
	Volume dopo ricostituzione o mescolamento
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2020, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

