

Elecsys Calcitonin

cobas®

REF			SYSTEM
07027044190	07027044500	100	cobas e 801

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
HCT	10106

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione quantitativa *in vitro* della calcitonina umana (tirocalcitonina) nel siero e nel plasma. La determinazione della calcitonina è destinata all'uso come aiuto nella diagnosi e nel trattamento delle malattie che interessano la tiroide e la paratiroidi, inclusi carcinoma ed iperparatiroidismo, congiuntamente con altre evidenze cliniche e altri risultati di laboratorio.

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

Sommario

La calcitonina umana (hCT) è un ormone peptidico di 32 aminoacidi dal peso molecolare di 3418 Da, secreto principalmente dalle cellule C parafollicolari della tiroide.¹ Viene metabolizzata nel fegato e nei reni e viene regolata dai livelli sierici di calcio. Fisiologicamente, l'hCT influenza il metabolismo del calcio e del fosforo. Inibisce il riassorbimento osseo per prevenire la perdita ossea in tempi di stress relativo al calcio (es. gravidanza, allattamento e crescita).^{2,3}

I livelli sierici di hCT sono relativamente alti nei neonati, diminuiscono poi rapidamente e rimangono relativamente stabili dall'infanzia all'età adulta. In genere, i livelli di hCT nel siero sono più alti negli uomini che nelle donne, mentre il fumo può provocare un loro ulteriore aumento.^{4,5,6}

La sindrome clinica più rilevante associata ad un'ipersecrezione anomala dell'hCT è il carcinoma midollare della tiroide (MTC), un tumore delle cellule tiroidee secernenti calcitonina, il quale comprende il 5-10 % di tutti i tumori tiroidei. Il 75-80 % dei casi insorge in modo sporadico, il resto come tratto autosomico dominante. Le *MTC Management Guidelines* (linee guida relative al trattamento del MTC), sviluppate dalla *American Thyroid Association*, raccomandano la determinazione della calcitonina nell'ambito della stratificazione del rischio / selezione del trattamento del MTC ereditario nonché nella valutazione e gestione dopo la tiroidectomia.^{7,8} Tali raccomandazioni sono state approvate dalla *European Thyroid Association* ed estese, dall'*European Panel of Experts*, alle determinazioni di routine della calcitonina nel siero dei pazienti con noduli tiroidei.⁹ Livelli di calcitonina moderatamente elevati possono risultare falsamente positivi sia per motivi tecnici che in presenza di altre condizioni patologiche rare (altri tumori neuroendocrini, iperparatiroidismo, insufficienza renale etc.). Per questo motivo, l'*European Panel of Experts* raccomanda che i soggetti con la calcitonina basale elevata siano sottoposti ad un test di stimolazione mediante iniezione di pentagastrina o per infusione rapida di calcio. La maggior parte degli MTC risponde alla stimolazione con un aumento significativo dei livelli di hCT.^{10,11}

Il test Elecsys Calcitonin impiega anticorpi monoclonali di origine murina, marcati con un complesso di rutenio^a, specificamente diretti contro l'hCT.

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

Principio del test

Principio sandwich. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: 30 µL di campione, un anticorpo monoclonale biotinilato specifico anti-hCT e un anticorpo monoclonale specifico anti-hCT, marcato con un complesso di rutenio, reagiscono formando un complesso sandwich.
- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di microparticelle rivestite di streptavidina, il complesso 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 HCT.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 flacone, 5.8 mL: microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.
- R1 Anticorpi anti-hCT~biotina, 1 flacone, 7.2 mL: anticorpo (murino) monoclonale biotinilato anti-hCT 1.50 mg/L; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 7.2; conservante.
- R2 Anticorpi anti-hCT~Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacone, 7.2 mL: anticorpo (murino) monoclonale anti-hCT marcato con un complesso di rutenio 1.0 mg/L; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 7.2; conservante.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti 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.

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 pg/mL + coefficiente di correlazione ≥ 0.95.

Stabilità: 4 ore a 20-25 °C, 1 giorno a 2-8 °C, 24 mesi 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.

Elecsys Calcitonin

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 06445861190, Calcitonin CalSet, per 4 x 1.0 mL
- REF 05618860190, PreciControl Varia, per 4 x 3.0 mL
- REF 07299010190, Diluent MultiAssay, 45.2 mL di diluente
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Analizzatore **cobas e 801**

Accessori 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 Cups, 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 lo Standard di Riferimento IRP 89/620 dell'OMS.

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 Varia.

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 pg/mL oppure in pmol/L (a scelta).

Fattori di conversione: $\text{pg/mL} \times 0.2926 = \text{pmol/L}$
 $\text{pmol/L} \times 3.4176 = \text{pg/mL}$

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	$\leq 1128 \mu\text{mol/L}$ oppure $\leq 66 \text{ mg/dL}$
Emoglobina	$\leq 0.124 \text{ mmol/L}$ oppure $\leq 200 \text{ mg/dL}$
Intralipid	$\leq 2000 \text{ mg/dL}$
Biotina	$\leq 163 \text{ nmol/L}$ oppure $\leq 40 \text{ ng/mL}$
Fattori reumatoidi	$\leq 1200 \text{ IU/mL}$
IgG	$\leq 4 \text{ g/dL}$
IgA	$\leq 1.6 \text{ g/dL}$
IgM	$\leq 0.7 \text{ g/dL}$

Valutazione: per le concentrazioni comprese tra 0.5 e 10 pg/mL, la deviazione è di $\leq 1 \text{ pg/mL}$. Per le concentrazioni $> 10 \text{ pg/mL}$, la deviazione è di $\leq 10 \%$.

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

Nessun effetto hook è stato riscontrato in caso di concentrazioni di hCT fino a $1 \mu\text{g/mL}$.

Sostanze farmaceutiche

Tra 17 farmaci di frequente impiego, testati *in vitro*, non si è osservata 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 $\mu\text{g/mL}$
Ioduro	0.2
Levotiroxina	0.25
Carbimazolo	30
Tiamazolo	80
Propiltiouracile	60
Perclorato	2000
Propranololo	240
Amiodarone	200
Prednisolone	100
Idrocortisone	200

Elecsys Calcitonin



Farmaco	Concentrazione testata µg/mL
Fluocortolone	100
Octreotide	0.3

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

0.5-2000 pg/mL (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 pg/mL. I valori al di sopra dell'intervallo di misura vengono indicati come >2000 pg/mL (oppure, su campioni diluiti 1:100, fino a 200000 pg/mL).

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco, limite di sensibilità e limite di quantificazione

Limite del bianco = 0.3 pg/mL

Limite di sensibilità = 0.5 pg/mL

Limite di quantificazione = 1 pg/mL

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 con concentrazioni di hCT al di sopra dell'intervallo di misura possono essere diluiti con Diluent MultiAssay. È raccomandata la diluizione 1:100 (automaticamente dall'analizzatore o manualmente). La concentrazione del campione diluito deve essere ≥ 20 pg/mL.

Dopo la diluizione manuale, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Dopo la diluizione automatica, il software calcola automaticamente la concentrazione del campione.

Valori di riferimento

I limiti superiori degli intervalli di riferimento sono forniti come il 97.5° percentile.

Coorte	N	97.5° percentile	Limite inferiore dell'IC ^{b)} al 95 %	Limite superiore dell'IC al 95 %
Donne apparentem. sane	193	6.40 pg/mL	5.17 pg/mL	9.82 pg/mL
Uomini apparentem. sani	162	9.52 pg/mL	8.31 pg/mL	14.3 pg/mL

b) IC = intervallo di confidenza

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, pool di sieri umani 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 pg/mL	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS pg/mL	CV %	DS pg/mL	CV %
Siero umano 1	0.819	0.028	3.4	0.035	4.3
Siero umano 2	8.43	0.193	2.3	0.208	2.5
Siero umano 3	59.8	1.30	2.2	1.47	2.5
Siero umano 4	747	18.8	2.5	19.3	2.6
Siero umano 5	1822	44.0	2.4	47.4	2.6
PreciControl Varia 1	8.46	0.174	2.1	0.219	2.6
PreciControl Varia 2	84.9	2.06	2.4	2.27	2.7

Confronto tra metodi

Il confronto del test Elecsys Calcitonin, [REF] 06445853190, (y) con un test disponibile in commercio (x), impiegando campioni prelevati da pazienti ospedalizzati, ha prodotto le seguenti correlazioni (pg/mL):

Numero dei campioni misurati: 248

Passing/Bablok ¹²	Regressione lineare
$y = 0.970x - 0.133$	$y = 1.12x - 1.91$
$r = 0.911$	$r = 0.977$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese fra 0.600 e 1866 pg/mL.

Il confronto del test Elecsys Calcitonin, [REF] 07027044190 (analizzatore **cobas e 801**; y), con il test Elecsys Calcitonin, [REF] 06445853190 (analizzatore **cobas e 601**; x), ha prodotto le seguenti correlazioni (pg/mL):

Numero dei campioni misurati: 138

Passing/Bablok ¹²	Regressione lineare
$y = 0.939x + 0.155$	$y = 0.930x + 1.87$
$r = 0.983$	$r = 0.999$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese fra 0.538 e 1898 pg/mL.

Specificità analitica

Sono state riscontrate le seguenti reazioni crociate, testate con concentrazioni di hCT di 9.11 pg/mL e 468 pg/mL:

Reattante che provoca reazioni crociate	Concentraz. testata ng/mL	Reattività crociata %
Calcitonina di salmone	100	0.017
Calcitonina porcina	500	0.007
Calcitonina di gallina	500	0.005
ACTH (1-39) umano	100	0.037
C-Peptide	40000	0.000
Peptide correlato al gene della calcitonina	1000	0.002
PTH (1-84) umano	150	0.013
TSH	1000 µIU/mL	0.009
Insulina	33500	0.000
Prolattina	1000	0.001

Elecsys Calcitonin

cobas®

Reattante che provoca reazioni crociate	Concentraz. testata ng/mL	Reattività crociata %
Gastrina I	2000	0.001
Elcatonina	100000	0.000
Katacalcina	40000	0.000

© 2016, Roche Diagnostics


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


Letteratura

- 1 Zaidi M, Moonga BS, Bevis PJ, et al. Expression and function of the calcitonin gene products. *Vit Horm* 1991;46:87-164.
- 2 Inzerillo AM, Zaidi M, Huang CL. Calcitonin: physiological actions and clinical applications. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2004;17(7):931-940.
- 3 Austin LA, Heath H 3rd. Calcitonin: physiology and pathophysiology. *New Engl J Med* 1981;304(5):269-278.
- 4 Mitchell DM, Jüppner H. Regulation of calcium homeostasis and bone metabolism in the fetus and neonate. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2010;17:25-30.
- 5 Machens A, Hoffmann F, Sekulla C, et al. Importance of gender-specific calcitonin thresholds in screening for occult sporadic medullary thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2009;16:1291-1298.
- 6 d'Herbomez M, Caron P, Bauters C, et al. Reference range of serum calcitonin levels in humans: influence of calcitonin assays, sex, age, and cigarette smoking. *Eur J Endocrinol* 2007;157(6):749-755.
- 7 Kloos RT, Eng C, Evans DB, et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid* 2009;19(6):565-612.
- 8 Wells SA Jr, Asa SL, Dralle H, et al. Revised American Thyroid Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid* 2015;25(6):567-610.
- 9 Elisei R, Romei C. Calcitonin estimation in patients with nodular goiter and its significance for early detection of MTC: European comments to the guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid Res* 2013;6(Suppl 1):S2.
- 10 Kratzsch J, Petzold A, Raue F, et al. Basal and stimulated calcitonin and procalcitonin by various assays in patients with and without medullary thyroid cancer. *Clin Chem* 2011;3:467-474.
- 11 Kudo T, Miyauchi A, Ito Y, et al. Serum calcitonin levels with calcium loading tests before and after total thyroidectomy in patients with thyroid diseases other than medullary thyroid carcinoma. *Endocr J* 2011;58(3):217-221.
- 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 <https://usdiagnostics.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.