

REF			SYSTEM
07027192190	07027192500	100	cobas e 801

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
DHEAS	10068

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione quantitativa *in vitro* del deidroepiandrosterone solfato (DHEA-S) nel siero e nel plasma umani.

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

Sommario

Il DHEA-S è un ormone steroideo per il quale le ghiandole surrenali sono l'unica fonte nelle donne e la fonte principale negli uomini. Il DHEA-S si riscontra nel feto, ma diminuisce rapidamente durante il primo anno di vita. All'età di circa 5-7 anni, la produzione del DHEA-S reinizia lentamente, aumenta durante la pubertà e raggiunge il massimo all'età compresa tra i 20 ed i 30 anni. Successivamente i livelli di DHEA-S diminuiscono costantemente, raggiungendo il 10 % dei livelli massimi all'età di 80 anni.^{1,2} Il DHEA-S ha un'emivita relativamente lunga (7-10 ore), e la sua concentrazione rimane quasi costante durante la giornata.¹

La misurazione del DHEA-S può essere utile nella diagnostica delle pazienti femminili che si presentano con sintomi clinici di iperandrogenismo.³ Livelli elevati di DHEA-S indicano la partecipazione della ghiandola surrenale. Una diminuzione dei livelli di DHEA-S e del testosterone sierico totale di più del 50 % dopo la soppressione al desametasone si considera come conferma dell'iperandrogenismo della ghiandola surrenale.⁴ Causa più comune sono le mutazioni missenso nel gene 21-idrossilasi, risultando in un'iperplasia surrenalica congenita moderata o da adulto o non classica (*non-classical congenital adrenal hyperplasia*: NCCAH). È stato stimato che l'incidenza della NCCAH è dell'1 % circa nella popolazione di New York.⁴ In casi rari la causa è un tumore surrenale; in uno studio effettuato da Carmina et al.,⁵ l'incidenza di un tumore surrenale era dello 0.2 % (2 su 950 donne con iperandrogenismo). Si sospetta un tumore nelle donne con valori di DHEA-S superiori a 700 µg/dL.⁶

Il test Elecsys DHEA-S impiega un principio di test competitivo con un anticorpo (coniglio) policlonale specifico anti-DHEA-S. Il DHEA-S endogeno del campione compete con il derivato del DHEA-S aggiunto, marcato con un complesso di rutenio^{a)}, per i siti di legame dell'anticorpo biotinilato.

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: incubando il campione (9 µL) con un anticorpo biotinilato specifico anti-DHEA-S, si forma un immunocomplesso, la cui quantità dipende dalla concentrazione dell'analita nel campione.
- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di microparticelle rivestite di streptavidina e di un derivato del DHEA-S, marcato con un complesso di rutenio, vengono occupati i siti di legame ancora liberi degli anticorpi biotinilati, formando così 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 DHEAS.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 flacone, 6.1 mL: microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.
- R1 Anticorpi anti-DHEA-S-biotina, 1 flacone, 9.9 mL: anticorpo (coniglio) policlonale biotinilato anti-DHEA-S 450 ng/mL; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 6.8; conservante.
- R2 DHEA-S-Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacone, 9.9 mL: derivato (sintetico) del DHEA-S marcato con un complesso di rutenio 0.32 ng/mL; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 6.8; 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 + coefficiente di correlazione ≥ 0.95.

Stabilità: 5 giorni a 20-25 °C, 14 giorni a 2-8 °C, 12 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.

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.

Elecsys DHEA-S



Materiali a disposizione

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

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 03000095122, DHEA-S CalSet, per 4 x 1.0 mL
- [REF] 11731416190, PreciControl Universal, per 4 x 3.0 mL
- 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 calibratori master prodotti gravimetricamente, consistenti di concentrazioni di DHEA-S esattamente definite in una matrice di siero umano depleto dell'analita.

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 µmol/L, in µg/dL oppure in µg/mL).

Fattori di conversione:

$$\begin{aligned} \mu\text{mol/L} \times 36.846 &= \mu\text{g/dL} \\ \mu\text{g/dL} \times 0.02714 &= \mu\text{mol/L} \\ \mu\text{g/dL} \times 0.01 &= \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

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	≤222 µmol/L oppure ≤13 mg/dL
Emoglobina	≤0.35 mmol/L oppure ≤0.56 g/dL
Intralipid	≤2000 mg/dL
Biotina	≤287 nmol/L oppure ≤70 ng/mL
Fattori reumatoidi	≤80 IU/mL

Valutazione: per le concentrazioni comprese tra 0.2 e 50 µg/dL, la deviazione è di ≤±5 µg/dL. Per le concentrazioni > 50 µg/dL, la deviazione è di ≤±10 %.

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.

Sostanze farmaceutiche

Tra 16 farmaci di frequente impiego, testati *in vitro*, non si è osservata alcuna interferenza con il test.

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

0.005-27.1 µmol/L oppure 0.2-1000 µg/dL (definito dal limite di sensibilità e dal massimo valore della curva master). I valori al di sotto del limite di sensibilità vengono indicati come <0.005 µmol/L oppure <0.2 µg/dL. I valori al di sopra dell'intervallo di misura vengono indicati come >27.1 µmol/L oppure >1000 µg/dL (oppure, su campioni diluiti 1:5, fino a 135.7 µmol/L oppure 5000 µg/dL).

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco, limite di sensibilità e limite di quantificazione

Limite del bianco = 0.003 µmol/L (0.1 µg/dL)

Limite di sensibilità = 0.005 µmol/L (0.2 µg/dL)

Limite di quantificazione = 0.081 µmol/L (3 µg/dL)

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 ≥ 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 %).

Elecsys DHEA-S



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

Diluizione

I campioni con concentrazioni di DHEA-S al di sopra dell'intervallo di misura possono essere diluiti impiegando campioni umani con una bassa concentrazione dell'analita. È raccomandata la diluizione 1:5. La concentrazione del campione diluito deve essere $> 1.22 \mu\text{mol/L}$ ($> 45 \mu\text{g/dL}$).

Se la concentrazione endogena di DHEA-S è trascurabile, moltiplicare i risultati per il fattore di diluizione o calcolarli secondo la seguente formula:

$$C = c + 4(c - D)$$

C = effettiva concentrazione di DHEA-S del campione

c = concentrazione di DHEA-S misurata

D = concentrazione di DHEA-S nel diluente (campione umano)

Valori di riferimento

Gli studi estesi con il test Elecsys DHEA-S, condotti in due centri clinici tedeschi, impiegando complessivamente 519 campioni prelevati da soggetti femminili, 489 campioni prelevati da soggetti maschili e 269 campioni prelevati da bambini, hanno prodotto i seguenti valori per i gruppi d'età elencati sotto (n. dei protocolli di studio: C00P032 e C01P005 – stato 05/01-11/01):

Età (anni)	N	50° percentile		5-95° percentile	
		μmol/L	μg/dL	μmol/L	μg/dL
Donne:					
10-14	73	3.34	123	0.92-7.60	33.9-280
15-19	55	4.26	157	1.77-9.99	65.1-368
20-24	36	6.46	238	4.02-11.0	148-407
25-34	64	4.96	183	2.68-9.23	98.8-340
35-44*	85	4.38	161	1.65-9.15	60.9-337
45-54*	89	3.28	121	0.96-6.95	35.4-256
55-64	59	2.08	76.7	0.51-5.56	18.9-205
65-74	29	1.75	64.4	0.26-6.68	9.40-246
≥75	29	1.65	60.9	0.33-4.18	12.0-154
Uomini:					
10-14	74	2.74	101	0.66-6.70	24.4-247
15-19	67	7.57	279	1.91-13.4	70.2-492
20-24	28	9.58	353	5.73-13.4	211-492
25-34	60	7.68	283	4.34-12.2	160-449
35-44	70	6.00	221	2.41-11.6	88.9-427
45-54	45	5.94	219	1.20-8.98	44.3-331
55-64	69	3.75	138	1.40-8.01	51.7-295
65-74	55	2.45	90.2	0.91-6.76	33.6-249
≥75	21	1.53	56.2	0.44-3.34	16.2-123
Bambini:					
<1 settimana	37	7.60	280	2.93-16.5	108-607
1-4 settimane	25	3.91	144	0.86-11.7	31.6-431
1-12 mesi	69	0.59	21.6	0.09-3.35	3.4-124
1-4 anni	59	0.14	5.0	0.01-0.53	0.47-19.4
5-9 anni	79	0.63	23.1	0.08-2.31	2.8-85.2

* L'influenza dalla menopausa sui valori ottenuti per le donne dei corrispondenti gruppi d'età è stata esaminata e risultata trascurabile.

I valori di DHEA-S nei neonati sono fortemente influenzati dallo scambio ormonale materno attraverso la placenta.

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								
			Ripetibilità			Precisione intermedia		
Campione	Media		DS		CV	DS		CV
	$\mu\text{mol/L}$	$\mu\text{g/dL}$	$\mu\text{mol/L}$	$\mu\text{g/dL}$	%	$\mu\text{mol/L}$	$\mu\text{g/dL}$	%
SU ^{b)} 1	0.012	0.436	0.027	0.160	36.6	0.005	0.174	39.9
SU 2	0.131	4.82	0.015	0.539	11.2	0.018	0.667	13.8
SU 3	8.47	312	0.315	11.6	3.7	0.413	15.2	4.9
SU 4	19.0	699	0.662	24.4	3.5	0.801	29.5	4.2
SU 5	25.5	939	0.912	33.6	3.6	1.29	47.7	5.1
PC ^{c)} Univer-sal1	5.56	205	0.190	7.01	3.4	0.225	8.29	4.0
PC Univer-sal2	15.4	492	0.426	15.7	3.2	0.619	22.8	4.6

b) SU = siero umano

c) PC = PreciControl

Confronto tra metodi

Il confronto del test Elecsys DHEA-S, [REF] 07027192190 (analizzatore **cobas e 801**; y), con il test Elecsys DHEA-S, [REF] 03000087122 (analizzatore **cobas e 601**; x), ha prodotto le seguenti correlazioni ($\mu\text{g/dL}$):

Numero dei campioni misurati: 148

Passing/Bablok⁷

$$y = 0.986x - 0.715$$

$$r = 0.971$$

Regressione lineare

$$y = 0.998x - 3.26$$

$$r = 0.997$$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 0.252 e 980 $\mu\text{g/dL}$.

Specificità analitica

Per il test Elecsys DHEA-S sono state riscontrate le seguenti reazioni crociate:

Sostanza	Reattività crociata %	Concentraz. additiva $\mu\text{g/dL}$
Androstenedione	10.8	1000
DHEA	8.90	1000
Androsterone	2.10	2000
Testosterone	2.55	2000
Aldosterone	0.320	5000
Androsterone solfato	1.10	5000
DHEA-glucuronide	2.08	5000
Estradiolo	n. r. ^{d)}	5000
Estriolo	n. r.	5000
Estrone	0.740	5000

Elecsys DHEA-S

Sostanza	Reattività crociata %	Concentraz. additiva µg/dL
Estrone-3-solfato	0.500	5000
Progesterone	1.32	5000
5α-Diidrotestosterone	1.12	5000
19-Ildrossiandrosterone	1.66	5000
Cortisolo	0.060	10000

d) n. r. = non rilevabile

Letteratura

- 1 Leowattana W. DHEAS as a new diagnostic tool. Clin Chim Acta. 2004;341(1-2):1-15.
- 2 Enea C, Boisseau N, Diaz V, et al. Biological factors and the determination of androgens in female subjects. J Steroids 2008;73(12):1203-1216.
- 3 Huang A, Brennan K, Azzriz R. Prevalence of Hyperandrogenemia in the Polycystic Ovary Syndrome by the NIH 1990 Criteria. J Fertil Steril. 2010;93(6):1938-1941.
- 4 Rachon D. Differential Diagnosis of Hyperandrogenism in Women with Polycystic Ovary Syndrome. J Exp Clin Endocrinol Diabetes 2012;120:205-209.
- 5 Carmina E, Rosato F, Janni A, et al. Relative Prevalence of Different Androgen Excess Disorders in 950 Women Referred because of Clinical Hyperandrogenism. J Clin Endocrinol Metab 2006;91(1):2-6.
- 6 Sciarra F, Tosti-Croce C, Toscano V. Androgen-secreting adrenal tumors. Minerva Endocrinol. 1995;20(1):63-8.
- 7 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>):

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

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

© 2017, Roche Diagnostics



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

