

Português**Função**

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da tiroxina livre em soro e plasma humanos.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características^{1,2,3,4}

A hormona tiroxina da tiróide (T4) faz parte, fisiologicamente, do sistema regulador da tiróide e influencia todo o metabolismo. A principal fracção da tiroxina total está ligada a proteínas de transporte (TBG, pré-albumina e albumina). A tiroxina livre (FT4) é a componente fisiologicamente activa da tiroxina.

A determinação da tiroxina livre é um elemento fundamental do diagnóstico clínico de rotina. A T4 livre é medida juntamente com a TSH quando se suspeita de perturbações da função da tiróide. A determinação da FT4 é também adequada para o controlo da terapêutica tiro-supressora. A determinação da T4 livre tem a vantagem de não depender de alterações das concentrações e das propriedades de fixação das proteínas de fixação; consequentemente, não é necessário determinar também um parâmetro de fixação (T-Uptake, TBG).

São vários os métodos existentes para calcular os níveis de hormonas livres da tiróide. A medição directa da FT4 e da FT3, através de diálise de equilíbrio ou de ultrafiltração, é utilizada sobretudo como método de referência para a padronização dos processos imunológicos habitualmente utilizados no diagnóstico de rotina.

No teste Elecsys FT4, a determinação da tiroxina livre é feita com a ajuda de um anticorpo específico anti-T4 marcado com complexo de ruténio^a. A quantidade de anticorpo utilizada é tão pequena (equivalente a aprox. 1-2% do teor total de T4 de uma amostra sérica normal) que o equilíbrio entre a fracção ligada e a fracção livre da T4 permanece praticamente inalterado.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) Ru(bpy)₃²⁺

Princípio do teste

Princípio de competição. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: 15 µl de amostra e os anticorpos específicos anti-T4, marcados com um complexo de ruténio.
- 2ª incubação: Após a incorporação de T4 biotinilada e das micropartículas revestidas de estreptavidina, forma-se um complexo anticorpo-hapteno que ocupa os locais de fixação ainda livres do anticorpo marcado. O complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys FT4, Ref. 11731297 - 200 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 12 ml:
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml; capacidade de ligação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Anticorpo anti-T4~Ru(bpy)₃²⁺ (tampa cinzenta), 1 frasco, 18 ml:
Anticorpo policlonal anti-T4 (carneiro) marcado com complexo de ruténio 50 ng/ml; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,0; conservante.
- R2 T4~biotina (tampa preta), 1 frasco, 18 ml:
T4 biotinilada 2,5 ng/ml; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,0; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys FT4 **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C: até ao fim do prazo de validade indicado

após abertura a 2-8°C: 12 semanas

no analisador 8 semanas

MODULAR ANALYTICS E170:

no analisador Elecsys 2010: 8 semanas

no analisador Elecsys 1010: 8 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro não diluído é colhido utilizando tubos de amostra padrão ou com gel separador.

Plasma tratado com heparina-Li, -Na, -NH₄⁺, EDTA-K₃, citrato de sódio e fluoreto de sódio/oxalato de potássio (sin diluir).

Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de < ± 2 x sensibilidade analítica + coeficiente de correlação > 0,95.

Estabilidade: 7 dias a 2-8°C, 30 dias a -20°C.⁵ Congelar apenas uma vez.

Estabilidade do soro colhido em tubos com gel separador:

48 horas a 2-8°C (conforme os dados fornecidos pelo fabricante).

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Ao utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C).

Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 11731661, Elecsys FT4 CalSet, 4 x 1 ml
 - Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
 - Equipamento normal de laboratório
 - Analisadores Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170
- Acessórios para os analisadores Elecsys 1010 e 2010:
- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
 - Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura



- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cuvetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cuvetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Apenas disponível nos EUA:

- Ref. 11776665 Elecsys FT4 CalCheck, 3 intervalos de concentração

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisador Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra o teste Enzymun-Test FT4, o qual, por sua vez, foi calibrado através de diálise de equilíbrio.^{3,4} Cada dispositivo de reagentes Elecsys FT4 contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do Elecsys FT4 CalSet.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisador Elecsys 1010:

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)
- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)

Para todos os analisadores:

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Elecsys PreciControl Universal 1 e 2. Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra (em pmol/l, ng/dl ou ng/l).

Factores de conversão: pmol/l x 0,077688 = ng/dl
ng/dl x 12,872 = pmol/l
pmol/l x 0,77688 = ng/l

Limitações – interferências

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 701 µmol/l ou < 41 mg/dl), hemólise (Hb < 1,2 mmol/l ou < 2 g/dl), lipemia (Intralipid < 2.000 mg/dl) e biotina < 409 nmol/l ou < 100 ng/ml.

Crítério: recuperação dentro de ± 10% do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até 339 UI/ml e de amostras de pacientes sujeitos a diálise.

Foram efectuados testes in vitro com 26 fármacos frequentemente utilizados, tendo-se observado que só a furosemida provocava concentrações elevadas de FT4 com a dose terapêutica diária.

Este teste não pode ser utilizado para determinar a T4 nos pacientes sujeitos a tratamento com agentes hipolipídemicos que contêm D-T4.

Se for necessário verificar o funcionamento da tiróide nesses pacientes, a terapêutica deverá ser interrompida durante 4-6 semanas para permitir o restabelecimento do estado fisiológico.⁶

O ensaio Elecsys FT4 nunca foi utilizado para analisar amostras de recém-nascidos.

Os auto-anticorpos para as hormonas da tiróide podem interferir com o ensaio.

O risco potencial de interferência por interações imunológicas entre os componentes do teste e soros raros foi minimizado através da inclusão de aditivos adequados.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina e para o ruténio.

O teste contém aditivos que minimizam estes efeitos.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição

0,300-100,0 pmol/l ou 0,023-7,77 ng/dl (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,300 pmol/l ou < 0,023 ng/dl e os valores acima do intervalo de medição como > 100,0 pmol/l ou > 7,77 ng/dl.

Diluição

As amostras para determinação de FT4 não podem ser diluídas porque a T4 encontra-se no sangue, em equilíbrio, nas formas livre e ligada a proteínas. Qualquer alteração da concentração das proteínas de fixação altera este equilíbrio.

Valores teóricos

Eutiróide: 12-22 pmol/l (0,93-1,7 ng/dl)

Estes valores correspondem aos percentis 2,5 e 97,5 dos resultados obtidos num total de 801 indivíduos saudáveis.

Status: MCE Reference Ranges Thyroid, status 1º trimestre 1998.

Para obter informações mais pormenorizadas sobre intervalos de referência em crianças, adolescentes e grávidas, consulte a brochura



"Reference Intervals for Children and Adults", Ref. do documento em inglês: 04640292, em alemão: 04625889.

Esta brochura contém também os resultados de um estudo detalhado sobre os factores que influenciam os parâmetros da tiróide num grupo de referência bem caracterizado de adultos. Foram aplicados critérios de inclusão e de exclusão diferentes (por ex. resultados de ecografias (volume e densidade da tiróide), bem como critérios que estão de acordo com as directrizes da National Academy of Clinical Biochemistry - NACB).

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controlos de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 1010/2010	Precisão intra-ensaio					Precisão total				
	Média		DP		CV	DP		CV		
Amostra	pmol/l	ng/dl	pmol/l	ng/dl	%	pmol/l	ng/dl	pmol/l	ng/dl	%
SH ^b 1	8,7	0,68	0,14	0,01	1,6	0,31	0,02	3,5		
SH 2	21,1	1,64	0,35	0,03	1,7	0,71	0,06	3,3		
SH 3	50,8	3,95	1,45	0,11	2,9	3,35	0,26	6,6		
PC U ^c 1	17,5	1,36	0,25	0,02	1,4	0,48	0,04	2,7		
PC U2	26,1	2,03	0,48	0,04	1,8	0,79	0,06	3,0		

b) SH = soro humano

c) PC = PreciControl Universal

MODULAR ANALYTICS E170

Amostra	Precisão intra-ensaio					Precisão total				
	Média		DP		CV	Média		DP		CV
	pmol/l	ng/dl	pmol/l	ng/dl	%	pmol/l	ng/dl	pmol/l	ng/dl	%
SH 1	9,15	0,71	0,12	0,01	1,4	14,9	1,16	0,40	0,03	2,7
SH 2	16,9	1,31	0,30	0,02	1,8	17,5	1,36	0,46	0,04	2,6
SH 3	34,2	2,66	0,68	0,05	2,0	35,9	2,79	1,29	0,10	3,6
PC U1	11,4	0,89	0,16	0,01	1,4	11,9	0,92	0,32	0,02	2,7
PC U2	41,6	3,23	0,58	0,05	1,4	42,7	3,32	2,06	0,16	4,8

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

0,30 pmol/l (0,023 ng/dl)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo passível de ser distinguido de zero.

Comparação dos métodos

Uma comparação dos testes Elecsys FT4 (y) com o Enzymun-Test FT4 (x), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (em pmol/l):

Número de amostras medidas: 314

Passing/Bablok⁷

y = 1,03x + 0,39

r = 0,900

DP (md68) = 0,518

Regressão linear

y = 1,01x + 0,63

r = 0,987

Sy.x = 0,836

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 2 e 81 pmol/l (0,16 e 6,3 ng/dl).

Especificidade analítica

Para o derivado de anticorpo utilizado, observaram-se as seguintes reacções cruzadas:

L-T4 e D-T4 100%; L-T3 1,53%; D-T3 1,38%; 3-iodo-L-tirosina 0,002%; 3,5-diiodo-L-tirosina 0,01%; ácido 3,3',5,5'-tetraiodotiroacético 38,5%.

Bibliografia

1. Wheeler MH, Lazarus JH. Diseases of the Thyroid. London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman and Hall, 1994;107-115.
2. Pfannenstiel P, Saller B. Schilddrüsenkrankheiten Diagnose und Therapie. Berliner Medizinische Verlagsanstalt GmbH 1991;2:43-62,72-89.
3. Ekins RP. Measurement of free hormones in blood. Endocr Rev 1990;11:5.
4. 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.
5. Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co 1995:596.
6. Bantle JP, Hunninghake DB, Frantz ID, Kuba K, Mariash CN, Oppenheimer JH. Comparison of Effectiveness of Thyrotropin-Suppressive Doses of D- and L-Thyroxine in Treatment of Hypercholesterolemia. Am J Med 1984;3:475-481.
7. Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à excepção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.
©2005 Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

