

11731394 122

200 testes

Português

Função

Imunoensaio para a determinação quantitativa *in vitro* da capacidade de fixação da tiroxina (TBC ou T4-Uptake) 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^{1,2,3,4,5,6}

A hormona tiroxina da tiróide (T4) faz parte, fisiologicamente, do sistema regulador da tiróide e influencia todo o metabolismo. A determinação da concentração de T4 é um elemento fundamental do diagnóstico laboratorial para diferenciar entre o eutiroidismo, o hipertiroidismo e o hipotiroidismo. Dado que a principal fracção da tiroxina total está ligada a proteínas de transporte (TBG, préalbumina e albumina), a determinação da tiroxina total só fornece informações correctas quando a capacidade de fixação da tiroxina no soro é normal. As hormonas da tiróide livres estão em equilíbrio com as hormonas ligadas às proteínas de transporte. Uma alteração da concentração de TBG pode levar a um aumento ou diminuição das concentrações de T4 total, apesar de a concentração de T4 livre se situar no intervalo eutiróidico. O teste T-uptake ou o TBC fornece uma medida dos locais de fixação da tiroxina que estão disponíveis.

A determinação do índice de tiroxina livre (fT4I), com base no quociente da T4 total e do TBI (thyroxine-binding index ou índice de fixação da tiroxina = resultado da determinação de T-uptake), toma em consideração as alterações nas proteínas de transporte da hormona da tiróide e o nível de tiroxina. O teste Elecsys T-Uptake é um método imunológico para a determinação da T-Uptake (TBC), no qual se adiciona T4 exógena para saturação da TBG.

Princípio do teste

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

- 1ª incubação: 15 µl de amostra, T4 exógena e polihapteno de T4 biotinilado. A T4 ocupa os locais de fixação livres na amostra sérica.
- 2ª incubação: Após a incorporação de um anticorpo específico anti-T4 marcado com complexo de ruténio^a o polihapteno e o derivado do anticorpo reagem entre si para formar um complexo, cuja concentração é inversamente proporcional à concentração da T4 exógena em excesso. Este complexo imunológico fixa-se às micropartículas revestidas de estreptavidina 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, gerada especificamente no analisador por uma curva de 2 pontos de calibração.

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

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys T-Uptake, Ref. 11731394 -200 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 12 ml:
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml, capacidade de fixação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Poli-T4-biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 18 ml:
Polihapteno de T4 biotinilado 70 ng/ml; tiroxina 60 ng/ml; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,0; conservante.
- R2 Anticorpo anti-T4~Ru(bpy)₃²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 18 ml:
Anticorpo policlonal anti-T4 (carneiro) marcado com complexo de ruténio 120 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 T-Uptake **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 MODULAR ANALYTICS E170:	5 semanas
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: 8 dias a 2-8°C, 3 meses a -20°C. Congelar apenas uma vez.

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. 11731505, Elecsys T-Uptake 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. 11776657 Elecsys T-Uptake 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 utilizando um painel de soro humano clinicamente definido, com um TBI médio de 1,0.⁷ As medições obtidas são índices. O valor normal foi determinado num estudo realizado com um grupo normal de soros e definido arbitrariamente para 1. Cada dispositivo Elecsys T-Uptake contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A calibração é adaptada ao analisador através do uso do Elecsys T-Uptake 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.

Verificação da calibração: Não é necessária. O software do analisador verifica automaticamente a validade da curva e alerta para eventuais desvios.

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 T-uptake (TBC) de cada amostra como valores de TBI.

Para obter mais informações sobre a função da tiróide (tomando também em consideração o valor de T4), é necessário determinar o índice de tiroxina livre. $ft4I = T4 : TBI$

Limitações – interferências⁷

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 < 164 nmol/l ou < 40 ng/ml. Critério: 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, Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Este teste não pode ser utilizado para determinar a T4 nos pacientes sujeitos a tratamento com agentes hipolipidémicos 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.⁸

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 o ruténio.

O teste contém aditivos que minimizam estes efeitos.

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

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 medição⁷

TBI: 0.200-1.90

Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,200 TBI e os valores acima do intervalo de medição como > 1,90 TBI.

Diluição

As amostras para determinação de T-uptake não podem ser diluídas porque a T4 encontra-se no sangue, em equilíbrio, nas formas livre e ligada a proteínas. Se a concentração das proteínas de fixação for alterada, o equilíbrio também é alterado, o mesmo acontecendo à capacidade de fixação cuja medição está a ser efectuada.

Valores teóricos⁷

Resultados do Elecsys T-Uptake (TBI) calculados em 974 amostras de soro de indivíduos com função tiroidea normal no Japão, na Bélgica e na Alemanha:

TBI: Mediana 1,0 (intervalo: 2.5-97,5): 0.8-1.3



T-Uptake

Índice FT4:

Resultados do Elecsys T4/TBI calculados em 825 amostras de soro de indivíduos com função tiroidea normal na Alemanha e no Japão (intervalo: 2.5-97,5):
62-164 nmol/l ou 4,8-12,7 µg/dl

Os valores seguintes foram determinados para o intervalo de percentil de 99% a partir dos resultados de 275 amostras de soro e plasma de indivíduos saudáveis dos EUA:

57-147 nmol/L ou 4,4-11,4 µg/dl

Os valores < 0,8 indicam a presença de hipertiroidismo ou de concentrações de TBG reduzidas; os valores > 1,3 indicam a presença de hipotiroidismo ou de concentrações de TBG elevadas.

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 diretrizes 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 desempenho⁷

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 TBI	DP TBI	CV %	DP TBI	CV %
Soro humano 1	1,80	0,012	0,7	0,016	0,9
Soro humano 2	0,95	0,020	2,2	0,035	3,3
Soro humano 3	0,55	0,028	5,1	0,064	11,7
PreciControl Universal 1	1,09	0,026	2,4	0,029	2,7
PreciControl Universal 2	0,94	0,031	3,3	0,034	3,7

MODULAR ANALYTICS E170	Precisão intra-ensaio			Precisão total		
	Média TBI	DP TBI	CV %	Média TBI	DP TBI	CV %
Soro humano 1	0,71	0,01	2,0	0,68	0,03	4,9
Soro humano 2	0,87	0,02	2,6	0,92	0,04	3,9
Soro humano 3	1,40	0,01	0,8	1,41	0,02	1,5
PreciControl Universal 1	1,22	0,01	0,8	1,23	0,03	2,4
PreciControl Universal 2	0,86	0,02	2,0	0,83	0,04	4,8

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

TBI: 0,200

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Comparação dos métodos

Uma comparação do método Elecsys T-Uptake (y) com o teste Enzymun-Test TBK (x), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações:

Número de amostras medidas: 145

Passing/Bablok⁹

$$y = 1,03x - 0,15$$

$$\tau = 0,717$$

$$DP (md68) = 0,029$$

Regressão linear

$$y = 0,98x - 0,09$$

$$r = 0,915$$

$$Sy.x = 0,031$$

Os valores de TBI das amostras variaram entre 0,8 e 1,4.

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

- Böttger HW, Pabst. Zur Interpretation und Wertigkeit der Schilddrüsen-in vitro-Diagnostik. Der Nuklearmediziner 1980;3:217-227.
- Emrich D. Schilddrüsen-in vitro-Test. Therapiewoche 1989;30:6852-6859.
- Hampel R, Ventz M, Weber A, Meng W. Praktische Bedeutung von extrathyreoidalen Beeinflussungen der Schilddrüsenhormonparameter. Dt. Gesundh.-Wesen 1981;36:1977-1980.
- Wheeler MH, Lazarus JH. Diseases of the Thyroid. London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman and Hall Medical, 1994:108.
- Fisher DA. Physiological variations in thyroid hormones; physiological and pathophysiological considerations. Clin Chem 1996;42:135-139.
- Pfannenstiel P, Saller B. Schilddrüsenkrankheiten Diagnose und Therapie. Berliner Medizinische Verlagsanstalt GmbH 1995;02:55:00-56.
- Documentação da Roche Diagnostics.
- 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.
- Fablok 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

