


REF		SYSTEM
06437281 190	200	Elecsys 2010 MODULAR ANALYTICS E170 cobas e 411 cobas e 601 cobas e 602

Deutsch**Anwendungszweck**

Immunologischer In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung von freiem Thyroxin in Humanserum und -plasma.

Der ElektroChemilumineszenz ImmunoAssay "ECLIA" ist zur Durchführung an Elecsys und **cobas e** Immunoassay-Systemen vorgesehen.

Zusammenfassung

Thyroxin (T4) ist das wichtigste Schilddrüsenhormon, das von der Schilddrüse ins Blut sekretiert wird. Zusammen mit Trijodthyronin (T3) spielt es eine entscheidende Rolle bei der Steuerung des Energiestoffwechsels, beeinflusst Herzkreislauf, Wachstum und Knochenmetabolismus und es ist wichtig für eine normale Entwicklung der Gonadenfunktion und des Nervensystems.¹

T4 zirkuliert im Blut gleichermaßen als freies und an Serum gebundenes Hormon. Freies T4 (fT4) ist die ungebundene und biologisch aktive Form, die nur ca. 0.03 % des Gesamt-T4 ausmacht. Das restliche T4 ist inaktiv und an Serumproteine wie Thyroxin-bindendes Globulin (75 %), Präalbumin (15 %) und Albumin (10 %) gebunden.^{2,3,4,5}

Die Bestimmung des freien T4 hat den Vorteil, dass sie von Veränderungen der Bindeproteinkonzentration und Bindeeigenschaften dieser Bindungsproteine unabhängig ist und damit auf die zusätzliche Bestimmung eines Bindungsparameters (T-Uptake, TBG) verzichtet werden kann. Deswegen ist freies T4 ein nützliches Hilfsmittel in der klinischen Routinediagnostik zur Beurteilung des Schilddrüsenstatus. Bei Verdacht auf Schilddrüsenfunktionsstörungen sollte es zusammen mit TSH bestimmt werden. Es ist ebenfalls zur Kontrolle von Patienten unter thyreosuppressiver Therapie geeignet.^{1,6,7}

Zur Abschätzung der freien Schilddrüsenhormonspiegel stehen verschiedene Bestimmungsmethoden zur Verfügung. Die direkte Messung des fT4 und fT3 mittels Gleichgewichtsdialyse oder Ultrafiltration dient im wesentlichen als Referenzmethode zur Standardisierung von immunologischen Verfahren, die in der Routinediagnostik überwiegend angewendet werden.^{6,7}

Im Elecsys FT4 II Test wird ein mit Ruthenium-Komplex^{a)} markierter spezifischer anti-T4 Antikörper zur Bestimmung des freien Thyroxin verwendet.

a) Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-Komplex (Ru(bpy)₃²⁺)

Testprinzip

Kompetitionsprinzip. Gesamtdauer des Tests: 18 Minuten

- 1. Inkubation: 15 µL Probe und ein mit Ruthenium-Komplex markierter, T4-spezifischer Antikörper.
- 2. Inkubation: Nach Zugabe von biotinyliertem T4 und Streptavidin beschichteten Mikropartikeln werden unter Bildung eines Antikörper-Hapten-Komplexes die noch freien Bindungsstellen des markierten Antikörpers besetzt. Der Gesamtkomplex wird über die Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung an die Festphase gebunden.
- Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Danach werden die ungebundenen Substanzen mit ProCell/ProCell M entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.
- Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über den Reagenzbarcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert.

Reagenzien – gebrauchsfertige Lösungen

Auf dem Reagenz-Rackpack-Etikett ist FT4 II angegeben.

- M Streptavidin-beschichtete Mikropartikel (Deckel transparent), 1 Flasche, 12 mL:
Streptavidin-beschichtete Mikropartikel, 0.72 mg/mL;
Konservierungsmittel.
- R1 Anti-T4-Ak~Ru(bpy)₃²⁺ (Deckel grau), 1 Flasche, 18 mL:
Polyklonaler anti-T4-Antikörper (Schaf) markiert mit Ruthenium-Komplex 75 ng/mL; Phosphatpuffer 100 mmol/L, pH 7.0;
Konservierungsmittel.
- R2 T4-Biotin (Deckel schwarz), 1 Flasche, 18 mL:
Biotinyliertes T4 2.5 ng/mL; Phosphatpuffer 100 mmol/L, pH 7.0;
Konservierungsmittel.

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

In-vitro-Diagnostikum.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Entsorgung aller Abfälle ist gemäß den lokalen Richtlinien durchzuführen.

Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage für berufsmäßige Benutzer erhältlich.

Schaumbildung bei allen Reagenzien und Probenarten (Proben, Kalibratoren und Kontrollen) vermeiden.

Reagenz-Handhabung

Die in der Packung befindlichen Reagenzien sind gebrauchsfertig zu einer untrennbaren Einheit zusammengefügt.

Alle für die korrekte Anwendung benötigten Informationen werden über die jeweiligen Barcodes eingelesen.

Lagerung und Haltbarkeit

Aufbewahrung bei 2-8 °C.

Nicht einfrieren.

Die Elecsys Reagenzpackung **aufrecht stehend** aufbewahren, um eine komplette Verfügbarkeit der Mikropartikel während des automatischen Mischens vor Gebrauch zu gewährleisten.

Haltbarkeit:	
ungeöffnet bei 2-8 °C	bis zum angegebenen Verfallsdatum
nach dem Öffnen bei 2-8 °C	84 Tage (12 Wochen)
auf den Geräten	28 Tage (4 Wochen) auf dem Gerät oder 56 Tage (8 Wochen) bei Wechsellagerung im Kühlschrank und auf dem Gerät, bei einer Gesamtzeit auf dem Gerät, die 120 Stunden nicht überschreitet

Probenentnahme und Vorbereitung

Nur die nachfolgend aufgeführten Proben wurden getestet und können verwendet werden.

Unverdünntes Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen oder Röhrchen, die Trenngel enthalten.

Unverdünntes Li-Heparin, K₂-EDTA und K₃-EDTA-Plasma.

Bewertung: Wiederfindung mit einer Gesamtabweichung $\pm \leq 0.6$ pmol/L vom Ausgangswert bei Konzentrationen < 3 pmol/L; Wiederfindung ± 10 % vom Ausgangswert bei Konzentrationen ≥ 3 pmol/L und Steigung

0.9-1.1 + Achsenabschnitt $\leq \pm 2x$ Limit of Blank (LoB) + Korrelationskoeffizient ≥ 0.95 .

Haltbarkeit: 7 Tage bei 2-8 °C, 30 Tage bei -20 °C.⁶ Nur einmal einfrieren.

Die aufgeführten Probenarten wurden mit einer Auswahl an handelsüblichen Probenentnahmeröhrchen, die zu diesem Zeitpunkt erhältlich waren, getestet, d.h. nicht alle erhältlichen Röhrchen aller Hersteller wurden getestet. Probenentnahmesysteme von verschiedenen Herstellern können unterschiedliche Materialien enthalten, die die Testergebnisse im Einzelfall beeinflussen können. Bei der Verwendung von Primäröhrchen (Probenentnahmesysteme) sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Keine hitzeinaktivierten Proben verwenden.

Keine mit Azid stabilisierten Proben und Kontrollen verwenden.

Es muss sichergestellt werden, dass die Temperatur der Proben, Kalibratoren und Kontrollen zur Messung 20-25 °C beträgt.

Auf den Geräten befindliche Proben, Kontrollen und Kalibratoren sollten wegen möglicher Verdunstungseffekte innerhalb von 2 Stunden vermessen werden.

Gelieferte Materialien

Siehe "Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen".

Zusätzlich benötigte Materialien

- [REF] 06437290190, FT4 II CalSet, 4 x 1 mL
 - [REF] 11731416190, PreciControl Universal, für je 2 x 3 mL PreciControl Universal 1 und 2
 - Allgemein übliche Laborausrüstung
 - Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 oder **cobas e** Gerät
- Zubehör für Elecsys 2010 und **cobas e** 411 Geräte:
- [REF] 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL Systempuffer
 - [REF] 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL Messzellen-Reinigungslösung
 - [REF] 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL Zusatz zum Waschwasser
 - [REF] 11933159001, Adapter für SysClean
 - [REF] 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 Reaktionsgefäße
 - [REF] 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 Pipettenspitzen
- Zubehör für MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 und **cobas e** 602 Geräte:
- [REF] 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L Systempuffer
 - [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L Messzellen-Reinigungslösung
 - [REF] 03023141001, PC/CC-Cups, 12 Gefäße zum Vorwärmern von ProCell M und CleanCell M
 - [REF] 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL Reinigungslösung für den Runabschluss und zum Spülen bei Reagenzwechsel
 - [REF] 03004899190, PreClean M, 5 x 600 mL Detektions-Reinigungslösung
 - [REF] 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazin M, 48 Magazine je 84 Reaktionsgefäße bzw. Pipettenspitzen, Abfallbeutel
 - [REF] 03023150001, WasteLiner, Abfallbeutel
 - [REF] 03027651001, SysClean Adapter M
- Zubehör für alle Geräte:
- [REF] 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL System-Reinigungslösung

Testdurchführung

Um eine einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen, sind die gerätespezifischen Anweisungen zu befolgen. Gerätespezifische Testanweisungen sind im entsprechenden Bedienungshandbuch zu finden.

Das Aufmischen der Mikropartikel vor Gebrauch erfolgt automatisch. Testparameter über die auf den Reagenzien befindlichen Barcodes einlesen. Sollte in seltenen Ausnahmefällen der Barcode nicht gelesen werden können, ist die 15-stellige Zahlenfolge einzugeben.

MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 und **cobas e** 602 Geräte: PreClean M Lösung ist erforderlich.

Gekühlt gelagerte Reagenzien vor Beladung auf ca. 20 °C temperieren und in den Reagenzrotor (20 °C) des Gerätes platzieren. Schaumbildung vermeiden. Temperieren der Reagenzien sowie Öffnen und Schließen der Flaschen erfolgt selbsttätig im Gerät.

Kalibration

Rückführbarkeit: Diese Methode wurde an der Elecsys FT4 Methode standardisiert. Der Elecsys FT4 Test ist auf den Enzymun-Test rückführbar und wurde mittels Gleichgewichtsdialyse standardisiert.^{5,8}

Jedes Elecsys Reagenz hat ein Barcode-Etikett mit spezifischen Informationen zur Kalibration der Reagenzcharge. Die vorgegebene Masterkurve wird durch den Einsatz des entsprechenden CalSets an das Gerät angepasst.

Kalibrationsfrequenz: Eine Kalibration muss einmal pro Charge mit frischem Reagenz erfolgen (maximal 24 Stunden nachdem die Reagenzpackung auf dem Gerät registriert wurde). Erneute Kalibration wird empfohlen:

- nach 1 Monat (28 Tagen) bei Einsatz der gleichen Reagenzcharge
- nach 7 Tagen (bei Einsatz der gleichen Reagenzpackung auf dem Gerät)
- bei Bedarf: z. B. Qualitätskontrolle außerhalb des definierten Bereichs

Qualitätskontrolle

Zur Qualitätskontrolle ist PreciControl Universal einzusetzen.

Zusätzlich können andere geeignete Kontrollmaterialien verwendet werden.

Die Kontrollen der verschiedenen Konzentrationsbereiche sind in Einfachbestimmung bei Gebrauch des Tests mindestens 1 x pro 24 Stunden, 1 x pro Reagenzpackung und anlässlich einer Kalibration mitzuführen.

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der definierten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall festlegen, dass Werte außerhalb der festgelegten Grenzen liegen.

Bei der Qualitätskontrolle die entsprechenden Gesetzesvorgaben und Richtlinien beachten.

Berechnung

Das Gerät berechnet automatisch die Analytkonzentration jeder Probe wahlweise in pmol/L, ng/dL oder ng/L.

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

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen

Der Test wird nicht beeinflusst durch Ikterus (Bilirubin < 701 µmol/L bzw. < 41 mg/dL), Hämolyse (Hb < 0.621 mmol/L bzw. < 1.0 g/dL), Lipämie (Intralipid < 2000 mg/dL), Biotin (< 81.8 nmol/L bzw. < 20 ng/mL), IgG < 7 g/dL, IgA < 1.6 g/dL und IgM < 1 g/dL.

Bewertung: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.

Bei Patienten unter Therapie mit hohen Biotin-Dosen (> 5 mg/Tag) sollte die Probenentnahme mindestens 8 Stunden nach der letzten Applikation erfolgen.

Es wurden keine Einflüsse durch Rheumafaktoren bis zu einer Konzentration von 1200 IU/mL und bei Proben von Dialysepatienten beobachtet.

Jeder Einfluss, der das Bindeverhalten der Bindungsproteine verändern kann, kann auch das Ergebnis des FT4 Tests beeinflussen (z.B. Drogen, NTIs (Non-Thyroid-Illness) oder Patienten, die an FDH (Familiäre Dysalbuminämische Hyperthyroxinämie) erkrankt sind).^{9,10}

Bei Patienten unter Therapie mit D-T4-haltigen Lipidsenkern kann der Test nicht eingesetzt werden. Zur Überprüfung der Schilddrüsenfunktion sollte hierbei die Therapie 4-6 Wochen vorher abgesetzt werden, damit der physiologische Zustand wieder hergestellt ist.¹¹

Autoantikörper gegen Schilddrüsenhormone können mit dem Test interferieren.⁷

17 häufig verwendete Pharmaka wurden in vitro getestet. Es konnten keine Störungen festgestellt werden.

Freies Thyroxin**Spezifität (analytisch)**

Folgende Kreuzreaktionen wurden ermittelt, getestet mit FT4 Konzentrationen von ca. 12.5 pmol/L (0.974 ng/dL) und 34.2 pmol/L (2.66 ng/dL):

Kreuzreaktant	getestete Konzentration ng/dL	Kreuzreaktivität %
L-T3	50000	0.005
D-T3	50000	0.001
rT3	190000	0.003
3-Jod-L-Tyrosin	10000000	0.000
3,5-Dijod-L-Tyrosin	10000000	0.000
3,3',5-triiodothyroacetic Säure	100000	0.0002
3,3',5,5'-tetraiodothyroacetic Säure	100000	0.001

Literatur

- 1 Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, et al. Williams Textbook of Endocrinology. Saunders Elsevier, Philadelphia, 12th edition, 2011.
- 2 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.
- 7 Brent GA. Thyroid Function Testing. Springer, Berlin, 1st edition, 2010.
- 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.

Weitergehende Informationen siehe Bedienungshandbuch des jeweiligen Gerätes, gerätespezifische Applikationsblätter, Produktinformationen und Methodenblätter aller erforderlichen Komponenten (falls im Land verfügbar).

Um die Grenze zwischen dem ganzzahligen Teil und dem gebrochenen Teil einer Zahl anzugeben, wird in diesem Methodenblatt immer ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet. Tausendertrennzeichen werden nicht verwendet.

Symbole

In Erweiterung zur ISO 15223-1 werden von Roche Diagnostics folgende Symbole und Zeichen verwendet.

CONTENT Inhalt der Packung

SYSTEM

Geräte, auf denen die Reagenzien verwendet werden können

REAGENT

Reagenz

CALIBRATOR

Kalibrator



Volumen nach Rekonstitution oder Mischen

Signifikante Ergänzungen oder Änderungen sind durch eine Markierung am Rand gekennzeichnet.

© 2013, Roche Diagnostics



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

