

## Ověření referenčního rozmezí volného trijodtyroninu v séru na analyzátoru Architect ci 16200

Vacková T., Franeková J., Jabor A.

Oddělení klinické biochemie, Pracoviště laboratorních metod, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

### SOUHRN

*Cíl studie:* Ověření referenčního intervalu nové metody na stanovení volného trijodtyroninu v séru na analyzátoru Architect ci 16200 firmy Abbott.

*Typ studie:* původní práce.

*Název a sídlo pracoviště:* Institut klinické a experimentální medicíny, Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha

*Materiál a metody:* Referenční interval byl ověřen celkem na 110 vzorcích séra od zdravých jedinců, z nichž bylo 55 žen a 55 mužů. Všechny použité vzorky pocházely z Biobanky IKEM. Na stanovení byla použita souprava fT3\_6, chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročasticích firmy Abbott.

*Výsledky:* Všechny naměřené hodnoty volného trijodtyroninu v séru novou metodou fT3\_6 byly v referenčním intervalu, který udává výrobce. Referenční rozmezí, stanovené na vzorcích z Biobanky IKEM neparametrickou statistickou metodou s Box-Cox transformací bylo 3,21 – 4,78 pmol/l.

*Závěr:* Referenční rozmezí fT3 stanovené novou metodou fT3\_6 firmy Abbott, je možné v klinické praxi použít s rozmezím udávaným výrobcem.

*Architect ci 16200, fT3, referenční interval (RI).*

### SUMMARY

**Vacková T., Franeková J., Jabor A.: Verification of the reference range of free triiodothyronine in serum on the analyzer Architect ci 16200**

*Objective:* Verification of the reference interval of a new method for the determination of free triiodothyronine in serum on the Abbott Architect 16200 analyzer.

*Design:* Original Article.

*Settings:* Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha

*Material and methods:* The reference interval was validated on a total of 110 serum samples from healthy subjects, comprising 55 females and 55 males. All samples used were from the IKEM Biobanka. The FT3\_6 microparticle chemiluminescent immunoassay Abbott kit was used for the assay.

*Results:* All free serum triiodothyronine values measured by the new fT3\_6 method were in the reference interval indicated by the manufacturer. The reference range determined by a non-parametric statistical method with the Box-Cox transformation on the IKEM Biobanka samples was 3.21 - 4.78 pmol/L.

*Conclusion:* The fT3 reference range established by the Abbott's new fT3\_6 method can be used in clinical practice with the range specified by the manufacturer.

*Keywords:* Architect 16200, fT3, reference interval (RI).

## Úvod

Nová metoda stanovení volného trijodtyroninu v séru firmy Abbott byla upravena z dvoubodové kalibrace na úplnou šestibodovou kalibraci: nová katalogová čísla reagensů (7K63-37,32,27), kontrolních roztoků (7K63-12) a kalibrátorů (7K63-02) [1]. Upravení metody vedlo ke změně referenčních intervalů (RI) a rozsahu měření (viz Tabulka 1) [1, 2].

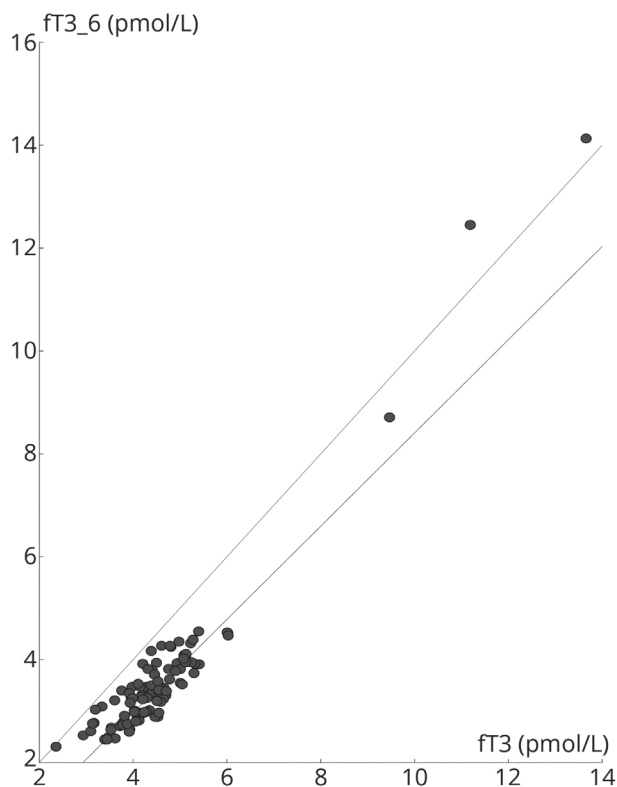
Hlavním podnětem pro ověření referenčních mezí byly výsledky porovnání původní a nové metody. Toto porovnání proběhlo před zavedením nové metody do rutinního použití.

V rámci verifikace nové metody stanovení fT3 jsme provedli porovnání celkem u 113 pacientů s různými hodnotami fT3, které jsme měřili jak novou, tak i původní metodou. Ze 113 patientských vzorků byly výsledky měření u 20 pacientů pod dolní mezí referenčního intervalu nové metody, i když při stanovení

původní metodou byly v referenčním rozmezí. U jednoho pacienta byl výsledek měření nad hodnotami RI nové metody v porovnání s původní metodou, kde byl výsledek měření v RI. Passing-Bablokovu regresní analýzu uvádíme v obr. 1 (Method Validator software, verze souboru 1.1.10.0). Vzhledem k jasné systematické chybě jsme provedli ověření referenčních mezí, které udává firma Abbott ve své příbalové informaci k nové metodě.

## Materiál a metody

Do studie pro ověření referenčního intervalu metody fT3\_6 bylo zařazeno celkem 110 náhodně vybraných zdravých jedinců kavkazské rasy (55 mužů a 55 žen). Byla použita séra probandů z Biobanky IKEM. Jedná se o biobanku biologického materiálu a anamnestických/demografických dat u zdravé populace (viz Tabulka 2).



**Fig. 1.** Comparison of the previous fT3 method with a new method fT3\_6. The Passing-Bablok regression was used; intercept -0.656 (95% CI -1.146 to -0.186), slope 0.906 (95% CI 0.800 to 1.024).

Projekt Biobanky vznikl v roce 2015 ve spolupráci s klinikami IKEM, Autotransfuzní jednotkou IKEM a Českým registrem dárců krve tvorných buněk a byl schválen Etickou komisí při Institutu klinické a experimentální medicíny a Thomayerově nemocnici.

Žilní krev byla probandům odebírána standardizovaným postupem, vzorky séra byly uchovávány v kryozkumavkách při teplotě  $-70^{\circ}\text{C}$ . Vzorky byly měřeny ve dvou různých dnech, ženy 12. 1. 2018, muži 16. 1. 2018. Obě série vzorků byly stanoveny jednou šarží reagentie, na jedné kalibraci. Před každou sérií vzorků byly změřeny kontrolní vzorky Immunoassay Plus (LOT: 40940) firmy BioRad. Všechny analyzované alikvoty byly rozmrazeny při laboratorní teplotě, následně byly centrifugovány 10 minut při 10 000 otáčkách. Po centrifugaci byly jednotlivé vzorky přepipetovány do označených keřů a měřeny na analyzátoru Architect ci 16200 firmy Abbott.

Princip stanovení fT3 je chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích. Tyto mikročástice jsou potažené anti-T3, která se naváže na volný trijodtyronin v séru. Po promytí se přidá konjugát T3 značený akridinium(N-sulfonyl)karboxamidem. Do reakční směsi se nakonec přidají roztoky Pre-Trigger ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) a Trigger (NaOH). Výsledná chemiluminiscenční reakce se měří v relativních světelných jednotkách (RLU). Je zde nepřímá úměra mezi množstvím volného trijodtyroninu v séru a signálem v RLU [2].

**Table 1:** The difference in reference intervals between previous (catalogue no. 7K63-35) and new (catalogue no. 7K63-37) method of fT3 measurement (Abbott Architect)

	fT3 (previous)	fT3_6 (new)
Reference interval (pmol/L)	2.63 – 5.70	2.89 – 4.88
Measurement range (pmol/L)	1.536 – 46.08	2.304 – 30.72

**Table 2:** The demographic data of tested population. Mean values (min - max)

Parameters	Female	Male
Age	29 (18 - 40)	32 (18-48)
Weight (kg)	63.8 (51 – 92)	86.4 (62 – 121)
Height (m)	1.69 (1.56 – 1.83)	1.83 (1.68 – 2.00)
BMI	22.34 (16.98 – 31.10)	25.72 (18.21 – 34.23)

**Table 3:** Evaluated reference interval and comparison with data given by the manufacturer

	IKEM fT3_6	Abbott fT3_6
M (pmol/L)	3.09 – 4.69	-
F (pmol/L)	3.39 – 4.91	-
A (pmol/L)	3.21 – 4.78	2.89 – 4.88

**Table 4:** Reference intervals of thyroid hormones

	<b>IKEM (our verification of RI)</b>	<b>Abbott [2,10,11]</b>	<b>ČSKB [3]</b>	<b>NACB 2002 [4]</b>	<b>Klinická biochemie [9]</b>	<b>Laboratorní diagnostika [5]</b>	<b>Clinical Laboratory Diagnostics [6]</b>
ft3 (pmol/L)	3.21 – 4.78	2.89 – 4.88	(3.2-3.6) – (6.1-6.5)	3.5 – 7.7	2.2 – 5.3	4.0 – 9.0	5.4 -12.3* 5.4 – 8.8**
ft4 (pmol/L)	10.60 – 15.40	9.01 – 19.05	(9-11) – (21-24)	9.0 – 23.0	9.1 – 23.8	9.0 – 25.0	10.0 – 23.0
TSH (mIU/L)	0.50 – 3.14	0.35 – 4.94	(0.35-0.45) – (2.5-5.5)	0.4 – 4.0	0.5 – 4.7	0.4 – 5.0	0.4 – 4.0

\* Values for the 2.5 – 97.5<sup>th</sup> percentile range [7]. The values were obtained using different test kits [6]

\*\* Values for the 5 – 95<sup>th</sup> percentile range [8]. The values were obtained using the test kit of one manufacturer [6]

## Výsledky

Hodnoty referenčních intervalů stanovených na našich 110 jedincích se nevýznamně lišily u skupiny žen a mužů. Jak ukazuje Tabulka 2, RI ft3 u žen je mírně vyšší než u mužů. Referenční rozmezí pro skupinu 110 jedinců bylo statisticky určeno neparametrickou metodou s Box-Coxovou transformací (MedCalc Statistical Software version 17.2, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <http://www.medcalc.org>; 2017). Zjištěné referenční rozmezí je uvnitř intervalu, který udává výrobce ve svém příbalovém letáku (Tabulka 3).

## Diskuse

Rozdíly mezi novou a starou metodou ft3, na analyzátoru Architect ci 16200 firmy Abbot, jsou v počtu kalibrátorů. Původní metoda byla kalibrována na dvoubodovou kalibraci, zatímco nová na šestibodovou. Dále se tyto dvě metody liší procesem výroby koncentrátu mikročástic z původního automatického zpracování mikročástic (AMPS – Automated Microparticle Processing System) na proces magnetické separace (Mag Sep – Magnetic separation) [1]. Tyto změny se pravděpodobně projeví systematickou odchylkou mezi původní a novou metodou a vedly ke změně referenčního intervalu. To bylo důvodem pro ověření referenčního rozmezí na vlastních datech.

Referenční intervaly tyreoidálních parametrů jsou podle doporučení ČSKB spojením očekávaných hodnot uváděných jednotlivými výrobci diagnostik a doporučení NACB 2002 [3]. V Tabulce 3 jsou uvedeny orientační referenční intervaly tyreoidálních parametrů, u kterých lze předpokládat, že byly stanoveny na základě 95% intervalu spolehlivosti u minimálně 120 zdravých jedinců do věku 70-75 let. U těchto dobrovolníků by neměly být detekovány tyreoidální protilátky, v rodinné anamnéze by neměla být přítomna tyreoidální dysfunkce, není u nich přítomna viditelná struma, ani na pohmat, a neměli by užívat léky [3, 4]. Rozmezí referenčních intervalů se mírně liší u jednotlivých autorů a publikací. Avšak všichni autoři či výrobci diagnostik se shodují, že si každá laboratoř má vytvořit nebo ověřit vlastní referenční intervaly pro danou metodu, kterou používá. Například Lothar Thomas ve své knize Clinical Laboratory Diagnostics

uvádí dva referenční intervaly pro metodu ft3. Jednotlivá rozmezí se v tomto případě liší statistickým vyhodnocením a použitím různých diagnostik [5-8]. Typ použitých metod a souprav ke stanovení tyreoidálních hormonů má podíl na rozdílech referenčních intervalů. Jedná se o imunochemické stanovení, kdy se využívá monoklonálních protilátek. Každý výrobce může používat jiné tyto protilátky nebo jiný proces výroby, a tím může dojít k odlišným referenčním mezím [2, 4].

V Tabulce 4 uvádíme také výsledky měření ft4 a TSH na stejné skupině osob, u kterých bylo ověřeno referenční rozmezí nové metody ft3. Zjistili jsme, že lze považovat referenční interval jak pro ft4, tak pro TSH za ověřený.

## Závěr

Referenční rozmezí zjištěné v rámci ověření v IKEM je uvnitř referenčního rozmezí uváděného firmou Abbott pro novou metodu ft3\_6.

## Literatura

- Abbott Diagnostic Division Informace o produktu ARCHITECT Free T3, Ireland, 13. 7. 2017, 11 s.
- Abbott Diagnostic Division Příbalový leták k produktu ARCHITECT Free T3 platný pro katalogová čísla 7K63-27(37, 32), česká verze G8-1469/R03, 03/2017, 6 s.
- Límanová, Z., Pikner, R., Springer, D.** Doporučení pro laboratorní diagnostiku funkčních a autoimunitních onemocnění štítné žlázy. *Klin. Biochem. Metab.*, 19 (40), 2011, No. 1, p. 48-61.
- Demers, L.M., Spencer, C.A.** Laboratory Support for the Diagnosis and Monitoring of Thyroid Disease 2002 NACB, *Laboratory Medicine Practise Guidelines*, 2002, 13, p. 125
- Zima, T.** Laboratorní diagnostika. Praha: Galén, 2013, 1146 s., ISBN 9788074920622
- Thomas, L.** Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results. Frankfurt am Main: TH-Books, 1998, 1527 s. ISBN 3-9805215-4-0.
- Röcker, L., Janiszewski, Ch., Hopfenmüller, W.** Determination of reference ranges for thyroid hormones in serum for the population of Berlin (West) with special emphasis of age- and gender- dependence. *Lab. Med.* 1988, 12, p. 213-22

8. **Liappis, N., Bernstorff v, W., Schlebusch, H.** Reference values for the concentration of free triiodothyronine, triiodothyronine, free thyroxine, thyroxine, thyrotropin and thyroxin-binding globulin in serum of euthyroid adults. Influence of oral contraceptives. Method: luminiscence-enhanced enzyme immunoassay. *Ärztl. Lab.* 1990, 36, p. 8-11
9. **Racek, J.** *Klinická biochemie*. Praha: Galén, 2006, 329 s. ISBN 8072623249
10. Abbott Diagnostic Division Příbalový leták k produktu ARCHITECT Free T4 platný pro katalogová čísla 7K65-39 (24, 39, 34), česká verze G8-1500/R03, 04/2017, 6 s.
11. Abbott Diagnostic Division Příbalový leták k produktu ARCHITECT TSH platný pro katalogová čísla 7K62-35 (20, 25, 30), česká verze G6-0153/R06, 11/2015, 7 s.

Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 31. 5. 2018

*Adresa pro korespondenci  
Mgr. Tereza Vacková  
Oddělení klinické biochemie  
Pracoviště laboratorních metod  
Institut klinické a experimentální medicíny  
Václavská 1958/9  
140 21 Praha  
e-mail: tereza.vackova@ikem.cz*