

CT

Calcitonina (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
CT111	2 ×50 testes
CT112	2 ×100 testes
CT113	2 ×30 testes

Uso pretendido

O ensaio de CT da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação quantitativa de Calcitonina (CT) sérica ou plasmática humana.

Resumo

A calcitonina humana (hCT), um hormônio peptídeo com 32 aminoácidos, é secretada pelas células C parafoliculares da glândula tireoide e regulada pelos níveis de cálcio sérico.¹ A CT apresenta efeitos sobre o metabolismo do cálcio e fósforo. Ela evita a reabsorção óssea e reforça a ação osteogênica.²

O nível sérico de CT é afetado pela idade e pelo sexo. É relativamente alto em crianças, cai rapidamente e é relativamente estável da infância até a vida adulta. Em geral, o nível sérico de CT é maior em homens em comparação a mulheres.^{3,4}

Níveis elevados de CT podem ser encontrados em diversas condições patológicas, como carcinoma medular da tireoide (MTC) e distúrbios leucêmicos e mieloproliferativos.⁵ Também podem ser encontrados com hiperparatireoidismo, hipergastrinemia, insuficiência renal e doença inflamatória crônica.⁶

MTC é a síndrome clínica mais proeminente associada à hipersecreção da CT, que pode ser diagnosticada pelo nível de CT sérica. Além disso, as medições do nível sérico de CT também pode ser usadas para monitorar a eficácia da terapia em pacientes com tumores associados a TC.⁷ Em uma pequena quantidade de pacientes, níveis hormonais basais que não podem ser diferenciados do normal representam os estágios precoces de neoplasia ou hiperplasia da célula C, que são mais sensíveis à cura cirúrgica. Para identificar os pacientes com doença precoce, testes de provocação da secreção de hCT são úteis para excluir pacientes com diagnóstico falso-negativo. A maioria dos tumores respondem com um aumento dos níveis de CT após administração de cálcio ou pentagastrina ou uma combinação de ambos.^{8,9}

Princípio de ensaio

O ensaio de CT da série CL é um ensaio imunoenzimático de dois sítios para determinar o nível de Calcitonina.

Na primeira etapa, amostragem, micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-CT monoclonal e fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-CT monoclonal foram adicionadas a uma cubeta de reação. Após a incubação, a CT presente na amostra se liga tanto às micropartículas revestidas de anticorpo quanto à fosfatase alcalina conjugada de anticorpo para formar um metaloceno. As micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por lavagem.

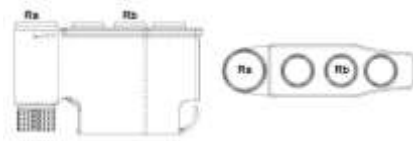
Na segunda etapa, a solução do substrato é adicionada à cubeta de reação. Ela é catalisada pela fosfatase alcalina de anticorpo anti-CT conjugada no imunocomplexo retido nas

micropartículas. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades de luz relativas (RLUs) por um fotomultiplicador integrado no sistema. A quantidade de CT presente na amostra é proporcional nas unidades de luz relativas (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de CT pode ser determinada via uma curva de calibração.

Componentes reagentes

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal anti-CT no tampão MES com conservante.
Rb	Fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-CT monoclonal em tampão MES com conservante.

A posição de cada componente reagente é mostrada na figura abaixo (vista frontal à esquerda e vista superior à direita):



Armazenamento e estabilidade

O kit de reagente de CT (CLIA) não aberto é estável até a data de expiração indicada quando armazenado a 2-8°C.

O kit de reagente de CT (CLIA) pode ser armazenado onboard e usado por um máximo de 56 dias após a abertura em 2-8°C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray.

Cat.No.CT211: Calibradores de CT, 1×2,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

Cat.No.CT212: Calibradores de CT, 1×1,2 mL C0, 1×1,0 mL C1 e 1×1,0 mL C2.

Cat.No.MML311: Multiconrole metabólico (L), 3×2,0 mL.

Cat.No.MML311: Multiconrole metabólico (H), 3×2,0 mL.

Cat.No.MML312: Multiconrole metabólico (L), 6×2,0 mL.

Cat.No.MML312: Multiconrole metabólico (H), 6×2,0 mL.

Cat.No.WB411: Tampão de lavagem, 1×10 L.

Cat.No.CS511: Solução de substrato, 4×115 mL.

Cubeta de reação

Instrumentos aplicáveis

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Coleta e preparação do espécime

Espécimes de soro ou plasma humanos coletados em EDTA, heparina sódica e heparina de lítio são recomendáveis para este ensaio.

Colete todas as amostras de sangue seguindo precauções de rotina para punção venosa. Siga as recomendações de centrifugação do fabricante do tubo de coleta de sangue. Centrifugue as amostras após a conclusão da formação de coágulos. Algumas amostras, principalmente aqueles de pacientes que recebem terapia anticoagulante podem apresentar maior tempo de coagulação. Certifique-se de que a fibrina residual e a matéria celular sejam removidas antes da análise.

Para obter resultados ideais, veja se há bolhas em todas as amostras. Remova as bolhas com a ponta de uma pipeta antes da análise. As amostras devem ser completamente misturadas após descongelamento. Amostras descongeladas devem ser centrifugadas antes do uso. Se a amostra estiver coberta com uma camada lipídica após a centrifugação, essa amostra deverá ser transferida para um tubo limpo antes do teste. Não transfira a camada lipídica. Manuseie com cuidado para evitar a contaminação cruzada. Não use amostras grosseiramente hemolizadas. Não use amostras inativadas por calor.

As amostras devem ser testadas assim que possível, após a coleta da amostra. Se a testagem não for realizada em 4 horas, as amostras deverão ser armazenadas a 2-8°C ou em temperatura mais fria. As amostras devem ficar estáveis por 24 horas a 2-8°C, 90 dias a -20°C. Evite mais de cinco ciclos de congelamento.

Procedimento do ensaio

Para obter o procedimento de ensaio ideal, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com atenção, para obter informações suficientes, como instruções de operação, preservação e administração da amostra, precauções de segurança e manutenção. Prepare todos os materiais necessários para o ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagente de CT (CLIA) na máquina pela primeira vez, o frasco fechado do reagente deve ser invertido suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspensão das micropartículas que se acomodaram durante a remessa ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas estão em suspensão de novo. Se as micropartículas permanecerem coladas no frasco, continue invertendo até que elas sejam totalmente ressuspensas. Se não for possível colocar as micropartículas em suspensão de novo, é recomendável não usar esse frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda. Não inverta o frasco do reagente aberto. Este ensaio requer 30 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do tubo da amostra. Um volume adicional é necessário ao realizar mais testes da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e o requisito específico do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

Calibração

A CT (CLIA) da série CL foi padronizada em relação a um teste de CT comercial (CLIA).

As informações específicas do kit de reagente da curva de calibração principal de CT (CLIA) são armazenadas no código de barras bidimensional colado no pacote do reagente. Ele é usado em combinação com os calibradores de CT para a calibração do lote do reagente específico. Ao realizar a calibração, verifique as informações da curva de calibração principal do código de barras no sistema primeiro, e depois use os calibradores CT em três níveis. A curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de CT. A recalibração é recomendável a cada 8 semanas ou quando um novo lote de reagente é usado, ou os controles de qualidade estão fora do intervalo especificado. Para obter instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operação do sistema.

Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem

em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada às necessidades individuais de cada laboratório. Os dois níveis recomendados de controles de qualidade para este ensaio são Multiconrole metabólico (L) e Multiconrole metabólico (H).

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora do intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras precisarão ser retestadas. Talvez seja necessário recalibrar. Examine o sistema do ensaio consultando o manual operacional do sistema. Se os resultados do controle de qualidade ainda estiverem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra na leitura da curva de calibração principal do código de barras, e um Ajuste da curva logística de 4 parâmetros (4PLC) com as unidades de luz relativas (RLUs) geradas dos calibradores CT dos valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados na unidade de pg/mL.

Diluição

Amostras com concentrações de CT acima do limite superior podem ser diluídas com o Diluente da Amostra da Mindray. A diluição recomendada é 1:40 (realizada manualmente ou automaticamente pelo analisador). A concentração da amostra diluída deve ser >15 pg/mL. Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição automática realizada pelo analisador, o sistema multiplica automaticamente o resultado pelo fator de diluição ao calcular a concentração da amostra.

Valores esperados

Um estudo em um coorte de 214 indivíduos saudáveis do sexo masculino determinou o intervalo de referência do ensaio de CT da série CL, gerando um limite de referência superior não paramétrico de 97,5% abaixo de 9,2 pg/mL.

Um estudo em um coorte de 203 indivíduos saudáveis do sexo feminino determinou o intervalo de referência do ensaio de CT da série CL, gerando um limite de referência superior não paramétrico de 97,5% abaixo de 6,0 pg/mL.

Devido à variação de dados geográficos, raça, gênero e idade, é altamente recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Limitações

O limite superior deste ensaio é de 2000 pg/mL. Um espécime com concentração de CT menor que o limite superior pode ser quantitativamente determinado, enquanto o espécime com uma concentração mais alta do que o limite superior será relatado como >2000 pg/mL ou diluindo as amostras com o Diluente da Amostra da Mindray. A concentração de CT em um dado espécime, determinada com ensaios de fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças nos métodos do ensaio, calibração e especificidade do reagente. Os resultados do ensaio devem ser usados em conjunto com outros dados para tomar decisões clínicas, como sintomas, resultados de outros testes, histórico clínico.

Os espécimes de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongos podem conter anticorpo humano anticamundongo (HAMA)¹⁰. Essas amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou falsamente reduzidos com kits de ensaio que empregam anticorpos monoclonais de

ratos^{11,12}. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

Características de desempenho

Limites inferiores de medição

O kit de reagente de CT (CLIA) apresenta um Limite de Espaço em Branco (LoB) de $\leq 0,5$ pg/mL, um Limite de Detecção (LoD) de $\leq 1,0$ pg/mL e um Limite de Quantificação (LoQ) de $\leq 2,0$ pg/mL (com um erro relativo permitido total $\leq 30\%$).

Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pela sensibilidade analítica e o limite superior da curva de calibração principal. O intervalo para relatório do kit de reagente de CT (CLIA) é 0,5-2000 pg/mL (ou se o limite superior estiver acima de 80000 pg/mL para amostras diluídas 40 vezes).

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 66 mg/dL, triglicérides até 2000 mg/dL e proteína total até 10 g/dL não vão interferir com o ensaio de CT da série CL. Essas substâncias mostram menos de 10% de interferência na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada do fator reumatoide (até 200 IU/mL) ou anticorpo antinuclear.

O Calibrador CT CO atinge o pico com outros hormônios, como prolactina, hormônio de crescimento humano (HGH), calcitonina de salmão, gastrina(G-17), colecistoquinina (CCK), hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH), Peptídeo-C, insulina, hormônio da paratireoide (PTH), hormônio tireostimulante (TSH) e gastrina grande humana em níveis específicos indicados na tabela abaixo. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada, pois todos as taxas de reação cruzada foram $\leq 0,02\%$. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Substância	Concentração de reagente cruzado (pg/mL)	Reatividade cruzada
prolactina	1000000	0.00%
HGH	910000	0.00%
calcitonina de salmão	50000	0.00%
gastrina (G-17)	2000000	0.00%
CCK	10000000	0.00%
ACTH	100000	0.00%
Peptídeo-C	40000000	0.00%
insulina	33000000	0.00%
PTH	150000	0.00%
TSH	140000	0.00%
gastrina grande humana	1000000	0.00%

Gancho de dose elevada

Para o ensaio de CT da série CL, nenhum efeito de gancho de dose elevada foi observado com amostras contendo até aproximadamente 1000000 pg/mL de CT onde foram testadas.

Exatidão

Dois controles de veracidade com valores rastreáveis e definidos foram usados para verificar a exatidão desse ensaio. Os resultados mostraram que os desvios relativos foram menores que $\pm 10\%$. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Valor de CT	Valor de CT definido	Desvio relativo
Nível 1	20,99	20,72	1,3%
Nível 2	300,96	303,28	-0,76%

	Medido (pg/mL)	(pg/mL)	
Nível 1	20,99	20,72	1,3%
Nível 2	300,96	303,28	-0,76%

Precisão

O ensaio de CT da série CL foi projetado para ter uma precisão de $\leq 6\%$ (dentro do CV do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Comitê Nacional para Normas de Laboratórios Clínicos (NCCLS), Protocolo EP5-A2¹³. Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas execuções separadas por dia, em um total de 20 dias, usando um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de precisão estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Média CT (pg/mL)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
1	19,62	5,06%	7,00%	8,64%
2	295,33	5,02%	6,01%	7,83%

Linearidade

Uma amostra com alta concentração de CT (aproximadamente 2000 pg/mL) foi misturada com uma amostra de baixa concentração ($<1,0$ pg/mL) em proporções diferentes, gerando uma série de diluições. A CT de cada diluição foi determinada com o uso do Ensaio de CT da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada no intervalo de 0,86 pg/mL a 2126,26 pg/mL. O coeficiente de correlação r é $\geq 0,990$. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (pg/mL)	1	2	3	4	5	6
Esperado CT	0,86	436,48	854,01	1115,39	1560,50	2126,26
Medido CT	0,86	425,94	851,02	1276,10	1701,18	2126,26

Comparação de métodos

O Ensaio de CT da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico comercialmente disponível em um estudo de correlação com cerca de 318 amostras. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação Deming estão resumidos na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (pg/mL)	Inclinação	Interceptação	Coefficiente de correlação
0.5~2000	0.9945	1.1815	0.9987

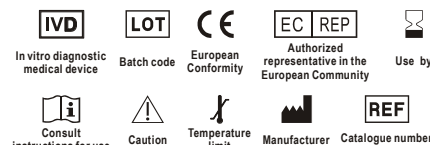
Avisos e precauções

- Apenas para diagnóstico in vitro.
- Siga todas as regras ao manusear reagentes de laboratório e adote as precauções de segurança necessárias.
- Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados de teste da mesma amostra podem ser diferentes durante o uso de kits de reagentes de fabricantes diferentes no sistema da Mindray ou com o uso de kits de reagentes da Mindray em outros sistemas.
- Não use kits de reagentes com a data de expiração vencida.
- Não use reagentes misturados de lotes diferentes.
- Sempre mantenha o pacote de reagente na posição vertical para assegurar que nenhuma micropartícula

seja perdida antes do uso.

- Não é recomendável usar o pacote de reagente aberto a mais de 56 dias.
- A confiabilidade se as instruções do ensaio não poderá ser garantida se as instruções no encarte deste pacote não forem seguidas.
- Todos os espécimes e dejetos de reação devem ser considerados potencialmente perigosos. O manuseio de amostras e dejetos de reação deve ser realizado de acordo com os regulamentos e diretrizes locais.
- A folha de dados de segurança de material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos Gráficos



Referências

- P Zaidi M, Moonga BS, Bevis PJ, et al. Expression and function of the calcitonin gene products. Vit Horm 1991;46:87-164.
- Austin LA, Heath H 3rd. Calcitonin: physiology and pathophysiology. New Engl J Med 1981;304(5):269-278.
- Mitchell DM, Jüppner H. Regulation of calcium homeostasis and bone metabolism in the fetus and neonate. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 2010;17:25-30.
- Machens A, Hoffmann F, Sekula C, et al. Importance of gender specific calcitonin thresholds in screening for occult sporadic medullary thyroid cancer. Endocr Relat Cancer 2009;16:1291-1298
- Hillyard CJ, Oscier DG, Foa R, et al. Immunoreactive calcitonin in leukemia. Br Med J 1979;2(6202):1392-1393.
- Mulder H, Hackeng WH. Ectopic secretion of calcitonin. Acta Med Scand 1978;204(4):253-256.
- Leboulleux S, Baudin E, Travagli J-P, et al. Medullary thyroid carcinoma. Clin Endocrinol 2004;61:299-310.
- Kratzsch J, Petzold A, Raue F, et al. Basal and stimulated calcitonin and procalcitonin by various assays in patients with and without medullary thyroid cancer. Clin Chem 2011;3:467-474.
- Kudo T, Miyauchi A, Ito Y, et al. Serum calcitonin levels with calcium loading tests before and after total thyroidectomy in patients with thyroid diseases other than medullary thyroid carcinoma. Endocr J 2011;58(3):217-221
- Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988; 34:27-33.
- Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.
- Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.
- CLSI. EP5-A2: Vol. 24, No. 25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method; Approved Guideline –Second Edition.

© 2015 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Todos os direitos reservados

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Endereço: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

Endereço de e-mail: service@mindray.com

Site: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Representante da EC: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Endereço: Eiffestraße 80, Hamburgo 20537, Alemanha

Tel: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

Registrado no Brasil por:

Mindray do Brasil Comércio e Distribuição de Equipamentos Médicos Ltda.

CNPJ: 09.058.456.0001-87

Endereço: Av. Pompéia, 634 conj. comercial 406. Vila Pompéia - São Paulo - SP

CEP: 05022-000

Responsável Técnica: Carla Rodríguez Morales Kelciauskas – CRF/SP nº 34657

Cadastro ANVISA: 80943610070

Assistência Técnica/SAC: 0800 8789 911 / sac.br@mindray.com