

## PTH

### Hormônio da Paratireoide (CLIA)

#### Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
PTH111	2 ×50 testes
PTH112	2 ×100 testes
PTH113	2 ×30 testes

#### Uso pretendido

O ensaio de PTH da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação quantitativa de PTH sérico ou plasmático humana.

#### Resumo

O hormônio da paratireoide (PTH) é uma cadeia de polipeptídeo único contendo 84 aminoácidos sintetizados pelas glândulas paratireoides, com um peso molecular de aproximadamente 9500 daltons. Depois de produzido, o PTH intacto é submetido a proteólise para gerar diversos fragmentos. O fragmento biologicamente ativo tem uma meia vida de apenas alguns minutos na circulação. O hormônio da paratireoide pode refletir a atividade secretora das glândulas paratireoides. Filtração glomerular é uma via importante para liberação<sup>1</sup> do PTH.

O PTH, junto à vitamina D e calcitonina, mantém a constância do cálcio no sangue. A medida do PTH é um auxílio significativo no diagnóstico de distúrbios relacionados ao cálcio. O PTH regula os níveis de cálcio no sangue por um efeito combinado sobre três órgãos: osso, mucosa intestinal e rim. O osso contém o maior armazenamento de cálcio. Em geral, o PTH eleva os níveis de cálcio no sangue, resultado da promoção da reabsorção óssea. No rim, o PTH estimula a excreção de fosfato e a reabsorção de cálcio para aumentar os níveis de cálcio no sangue. O PTH promove a absorção de cálcio e fosfato no intestino, resultando nos altos níveis de cálcio no sangue. O PTH eleva a atividade de 25-hidroxivitamina D3-1-hidroxilase e impulsiona a produção de 1,25-dihidroxivitamina D3 com alta atividade<sup>2</sup>.

A estimativa quantitativa do PTH circulante leva ao diagnóstico diferencial de hipercalcemia e hipocalcemia em pacientes com distúrbios de metabolismo do cálcio. Na hipercalcemia causada por hiperparatireoidismo primário ou pseudo-hiperparatireoidismo (secreção de PTH ectópico), os níveis de PTH são elevados na maioria dos pacientes. Na hipercalcemia resultante de doença maligna ou outras causas, a concentração de PTH circulante é baixa<sup>3</sup>.

O hiperparatireoidismo secundário em razão da hipocalcemia ou de outras causas é um hiperfuncionamento compensatório das glândulas paratireoides, causado, em geral, por insuficiência renal. Na insuficiência renal, a superprodução crônica de PTH resulta em uma série de doenças do metabolismo ósseo, chamadas de osteodistrofia renal<sup>2</sup>. As diretrizes da prática clínica publicadas pela National Kidney Foundation (NKF) recomendam que, em todos os pacientes com doença renal crônica, os níveis séricos de cálcio, fósforo e PTH sejam determinados periodicamente<sup>4</sup>.

Uma vez que o PTH apresenta uma meia vida curta, os níveis intraoperatórios do PTH também são utilizados na ressecção do adenoma das glândulas paratireoides do hiperparatireoidismo terciário<sup>5</sup>. As diretrizes do NACB recomendam que amostras de linha de base sejam obtidas no período de pré-operação e pré-excisão da glândula

suspeita de hiperfuncionamento<sup>6</sup>. As amostras de teste devem ser obtidas dentro de 5 a 10 minutos da ressecção, e uma redução superior a 50% na concentração de PTH contrastante com a linha de base mais alta deve ser utilizada como critério para cirurgia bem-sucedida.

No hiperparatireoidismo congênito ou adquirido, a secreção de PTH é insuficiente ou ausente. Na maioria dos casos, ela ocorre após a paratireoidectomia ou tireoidectomia.

#### Princípio de ensaio

O ensaio de PTH da série CL é um ensaio imunoenzimático de dois locais para determinar o nível de PTH.

Na primeira etapa, amostragem, micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-PTH policlinal e fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-PTH monoclonal foram adicionadas a uma cubeta de reação. Após a incubação, o PTH presente na amostra se liga tanto às micropartículas revestidas de anticorpo anti-PTH quanto à fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-PTH 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 conjugada de anticorpo anti-PTH (camundongos) 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 PTH presente na amostra é proporcional nas unidades de luz relativas (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de PTH pode ser determinada via uma curva de calibração.

#### Componentes reagentes

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-PTH monoclonal (cabra) no tampão TRIS com conservante.
Rb	Fosfatase alcalina conjugada de anticorpo Anti-PTH (camundongos) 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 PTH (CLIA) não aberto é estável até a data de expiração indicada quando armazenado a 2-8°C.

O kit de reagente de PTH (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

**All empires fail, you just have to know where to push. Materiais necessários, mas não fornecidos**

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray.

Cat.No.PTH211: Calibradores de PTH, 1×2,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

Cat.No.PTH212: Calibradores de PTH, 1×1,2 mL C0, 1×1,0 mL C1 e 1×1,0 mL C2.

Cat.No.MML311: Multicontrol Metabólico (L), 3×2,0 mL.  
Cat.No.MMH311: Multicontrol metabólico (H), 3×2,0 mL.  
Nº Cat. MML 312: Multicontrol metabólico (L), 6×2,0 mL.  
Nº Cat. MMH 312: Multicontrol 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

Amostras de soro e plasma humanos (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. Para amostras de soro armazenadas tampadas, se o teste não for realizado em até 8 horas, as amostras deverão ser armazenadas a 2-8 °C ou em temperatura mais baixa. As amostras são estáveis por 2 dias sob 2-8 °C e durante 6 meses sob -20 °C. Para amostras plasmáticas armazenadas tampadas, se o teste não for concluído dentro de 48 horas, as amostras deverão ser armazenadas sob 2-8 °C ou temperatura mais baixa. As amostras devem ficar estáveis por 3 dias a 2-8°C, 6 meses 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 PTH (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 contêiner da amostra. Um volume adicional é necessário a 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

O PTH da série CL (CLIA) foi padronizado em relação ao padrão de PTH 79/500 da OMS.

As informações específicas do kit de reagente da curva de calibração principal de PTH (CLIA) são armazenadas no código de barras bidimensional colado no pacote do reagente. Ele é usado em combinação com os calibradores de PTH 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 PTH em três níveis. A curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de PTH. A recalibração é recomendável a cada 4 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 Multicontrol metabólico (L) e Multicontrol 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 PTH dos valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados na unidade de pg/mL.

Fator de conversão: pg/mL x 0,106 = pmol/L

#### Valores esperados

Um estudo de um coorte de 195 indivíduos saudáveis determinou o intervalo de referência do ensaio de PTH da série CL

Número de amostras	95º Intervalo de Confiança
195	12,0-88,0 pg/mL

Em razão da variação de idade, sexo, região geográfica, estação do ano, pigmentação da pele, exposição à luz solar, suplementação de vitamina D, função renal e insuficiência de vitamina D, é altamente recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

## Limitações

O limite superior deste ensaio é de 5000 pg/mL. Uma amostra com concentração de PTH 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 >5000 pg/mL.

A concentração de PTH 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.

Os espécimes de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongos podem conter anticorpo humano anticamundongo (HAMA). Esses amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou falsamente reduzidos com kits de ensaio que empregam anticorpos monoclonais de camundongos<sup>8,9</sup>. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

## Características de desempenho

### Sensibilidade analítica/Limite de detecção

O kit de reagente de PTH (CLIA) apresenta um Limite de Espaço em Branco (LoB) de  $\leq 1,2$  pg/mL, um Limite de Detecção (LoD) de  $\leq 3,0$  pg/mL e um Limite de Quantificação (LoQ) de  $\leq 6,0$  pg/mL (com um erro relativo permitido total  $\leq 30$  %).

### Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pelo Limite de Espaço em Branco e o limite superior da curva de calibração principal. O intervalo para relatório do kit de reagente de PTH (CLIA) é 1,2-5000 pg/mL.

### Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicérides até 1500 mg/dL e proteína total até 10 g/dL não vão interferir com o ensaio de PTH da série CL. Essas substâncias mostra menos de 10% de interferências na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada do fator reumatoide (até 400 IU/mL) ou anticorpo antinuclear.

O Calibrador PTH C0 atingiu o pico com PTH 39-68, PTH 39-84, PTH 44-68, PTH 53-84, PTHrP 1-34, PTH 1-37, proteína relacionada ao PTH (1-86). Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada, pois todos os resultados foram  $\leq 0,5\%$ . Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Substância	Concentração de reagente cruzado (pg/mL)	Reatividade cruzada
PTH 39-68	10000	0,01%
PTH 39-84	10000	0,01%
PTH 44-68	10000	0,01%
PTH 53-84	10000	0,00%
PTHrP 1-34	10000	0,00%
PTH 1-37	10000	0,03%
Proteína relacionada ao PTH (1-86)	10000	0,00%

### Gancho de dose elevada

Para o ensaio de PTH da série CL, nenhum efeito de gancho de dose elevada foi observado com amostras contendo até aproximadamente 25000 pg/mL de PTH onde foram testadas.

## Exatidão

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

Amostra	Valor de PTH Medido (pg/mL)	Valor de PTH Definido (pg/mL)	Desvio relativo
Nível 1	63,60	62,34	2,02%
Nível 2	870,94	843,61	3,24%

## Precisão

O ensaio de PTH da série CL foi projetado para ter uma precisão de  $\leq 10\%$  (dentro do CV do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Comitê Nacional para Normas de Laboratórios Clínicos (NCLCS), Protocolo EP5-A2<sup>10</sup>. 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	PTH Médio (pg/mL)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
1	58,97	5,05%	5,61%	8,29%
2	821,48	6,07%	6,56%	8,94%

## Linearidade

Uma amostra com alta concentração de PTH (aproximadamente 5000 pg/mL) foi misturada com uma amostra de baixa concentração (<3 pg/mL) em proporções diferentes, gerando uma série de diluições. O PTH de cada diluição foi determinada com o uso do Ensaio de PTH da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada no intervalo de 3 pg/mL a 5000 pg/mL. o coeficiente de correlação  $r \geq 0,990$ . Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (pg/mL)	1	2	3	4	5	6
PTH Esperado	1,49	983,27	1804,41	3233,93	4453,86	5135,42
PTH Medido	1,49	1028,28	2055,07	3081,86	4108,65	5135,42

## Comparação de métodos

O Ensaio de PTH da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico comercialmente disponível em um estudo de correlação com cerca de 310 amostras de soro. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação Deming estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração Intervalo	Inclinação	Interceptação	Coefficiente de correlação
1,2 ~ 5000 pg/mL	1,01	0,7411	0,9977

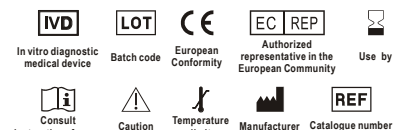
## Avisos e precauções

- 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 dos resultados do ensaio não poderá ser garantida se as instruções no encarte deste pacote não forem seguidas.
- Todos os espécimes e detritos de reação devem ser considerados potencialmente perigosos. O manuseio de amostras e detritos de reação deve ser realizado de acordo com os regulamentos e diretrizes locais<sup>12</sup>.
- A folha de dados de segurança de material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

## Símbolos Gráficos



## Referências

- Goltzman D, Hendy GN. Parathyroid Hormone. Em: Becker KL, editor Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism, 3rd edition. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001: 497-512.
- Strewler GJ. Mineral metabolism and metabolic bone disease. In Basic and Clinical Endocrinology Fifth Edition; Greenspan FS & Strewler GJ Eds, 1997; 263-316.
- Marx S. Hyperparathyroid and hypoparathyroid disorders. NEJM 2000; 343: 1863-1875.
- K/DOKI guidelines for the management of renal osteodystrophy. Am J Kidney Dis 2003; 42 (Suppl 3): S1-201.
- Haustein SV, Mack E, Starling JR, Chen H. The role of intra-operative parathyroid hormone testing in patients with tertiary hyperparathyroidism after renal transplantation. Surgery 2005; 138 (6): 1066-1071.
- Nichols, JH, Christenson RH, Clarke W, Gronowski A, Hammett-Stabler CA, Jacobs E, Kasmierczak S, Lewandrowski K, Price C, Sacks D, Sautter RL, Shipp G, Sokoll L, Watson I, Winter W, Zucker M, National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Evidence Based Practice for Point of Care Testing. AACC Press: 2006.
- 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:** +86-755-26582880

**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:** 80943610071

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