

E3

Estríol (CLIA)

Informações do pedido

Número do catálogo	Tamanho da embalagem
E3111	Testes 2x50
E3112	Testes 2x100
E3113	Testes 2x30

Uso pretendido

O ensaio E3 da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para determinação quantitativa de estríol (E3) em soro humano.

Resumo

O estríol é um hormônio esteróide secretado principalmente pelo fígado fetal e placenta. Os precursores de estríol, colesterol e pregnenolona, são derivados a partir da mãe e da placenta. A pregnenolona é convertida para dehidroepiandrosterona (DHEA), pelas glândulas supra-renais fetais, e em seguida, o DHEA é convertido em 16-OH-DHEA-sulfato no fígado fetal. O derivado sulfatado passa para a placenta e é convertido para o estríol e entra no plasma materno.¹ Uma vez na circulação materna, a sua meia-vida é de aproximadamente 20 minutos antes da conjugação no fígado. O estríol compreende 90% dos estrogênios circulantes em gestações normais. A determinação dos níveis séricos de forma não conjugada fornece um indicador sensível do bem-estar do feto e da função placentária.²

Princípio do ensaio

O ensaio de E3 da série CL é um ensaio imunoenzimático de ligação competitiva para determinar o nível de estríol.

No primeiro passo, a amostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas com IgG de cabra anti-rato, conjugado de fosfatase estríol-alcaina e anticorpo anti-estríol monoclonal (rato) são adicionados a um recipiente de reação. Após a incubação, o estríol na amostra compete com o conjugado de fosfatase estríol-alcaina pelos locais de ligação no anticorpo anti-estríol. O antígeno resultante: complexos de anticorpo são ligados a IgG de cabra anti-rato em micropartículas, que são fixadas magneticamente enquanto que outras substâncias não ligadas são removidas por lavagem.

No segundo passo, a solução de substrato é adicionada ao recipiente de reação. Ela é catalisada por conjugado de fosfatase

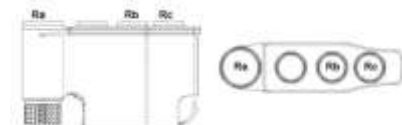
estríol-alcaina no imunocomplexo retido na micropartícula.

A reação de quimioluminescência resultante é medida com unidades relativas de luz (RLU) por um fotomultiplicador incorporado no sistema. A quantidade de estríol presente na amostra é inversamente proporcional às unidades relativas de luz (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de estríol pode ser determinada através de uma curva de calibração.

Componentes do reagente

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com cabra anti-rato IgG em tampão de TRIS com conservante.
Rb	conjugado de fosfatase estríol-alcaina em tampão de MES conservante
Rc	Anticorpo (rato) anti-estríol monoclonal em tampão de TRIS com conservante.

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



Armazenamento e estabilidade

O kit de reagentes de E3 fechado (CLIA) é estável até a data de validade indicada, quando armazenados a 2-8°C.

O kit de reagentes de E3 (CLIA) pode ser armazenado em uso e utilizado por no máximo 28 dias após a abertura a 2-8°C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Rc: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analísador de Imunoensaio por Quimioluminescência Série CL Mindray

N.º do cat. E3211/E3212: Calibradores de Estríol Mindray, 1x2,0 mL/1x1,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

N.º do cat. RHL311/RHL312: Multicontrol Reprodutivo Mindray (L), 6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. RHH311/RHH312: Multicontrol Reprodutivo Mindray (H), 6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. RHL313/RHL314: Multicontrol Reprodutivo Mindray (L), 1x5,0 mL/3x5,0 mL.

N.º do cat. RHH313/RHH314: Multicontrol Reprodutivo Mindray (H), 1x5,0 mL/3x5,0 mL.

N.º do cat. WB411: Tampão de lavagem Mindray, 1x10 L.

N.º do cat. CS511/CS512: Solução de Substrato Mindray, 4x115 mL/4x75 mL.

Recipientes de Reação Mindray

Instrumento aplicável

Analísador de Imunoensaio de Quimioluminescência Mindray Série CL.

Coleta e Preparação do Espécime

Soro humano é recomendado e aceitável para este ensaio.

Centrifugue as amostras após a formação do coágulo ser finalizada. Transfira os sobrenadantes para dentro de tubos para armazenamento ou teste dentro de duas horas após a centrifugação.

As amostras devem ser testadas o mais rápido possível após sua coleta. Se o teste não for concluído dentro de 8 horas, as amostras devem ser bem fechadas e refrigeradas a 2-8°C. Se o teste atrasar mais de 72 horas, as amostras devem ser congeladas a -20°C ou menos.

Evite ciclos de congelamento e descongelamento repetidos.

Procedimento do ensaio

Para um melhor desempenho deste ensaio, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com cuidado, para obter informações suficientes, tais como instruções de operação, manutenção e gerenciamento de amostras, medidas de segurança e manutenção. Prepare todo o material necessário para esse ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagentes de E3 (CLIA) na máquina pela primeira vez, o frasco de reagente fechado deve ser invertido suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspender as micropartículas que se assentaram durante o transporte ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas foram novamente suspensas. Se as micropartículas permanecerem aderidas ao frasco, continue invertendo até que as micropartículas sejam completamente ressuspensas. Se as micropartículas não puderem ser novamente suspensas, recomenda-se não usar este frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço ao Cliente Mindray. Não inverta o frasco de reagente aberto.

Este ensaio necessita de 20 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do recipiente da amostra. Volume adicional é necessário para a realização de testes adicionais da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operações do

sistema e os requisitos específicos do ensaio para determinar o volume mínimo de amostra.

Calibração

A série CL de E3 (CLIA) foi padronizada de acordo com um teste de E3 comercial (CLIA).

A informação específica de curva de calibração principal do kit de reagentes de E3 (CLIA) é armazenada no código de barras bidimensional anexado à embalagem do reagente. É usado em conjunto com os calibradores para a calibração do lote de reagentes específico. Ao realizar a calibração, primeiro digitalize a informação da curva de calibração principal a partir do código de barras no sistema, e, em seguida, use os calibradores em três níveis. Curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de E3. A recalibração é recomendada a cada quatro semanas, ou quando um novo lote de reagentes for usado, ou quando os controles de qualidade estiverem fora do intervalo especificado. Para instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operações 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 controles de qualidade de dois níveis recomendados para este ensaio são Multicontrol Reprodutivo Mindray (L) e Multicontrol Reprodutivo Mindray (H).

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora de seu intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras deverão ser testadas novamente. A recalibração pode ser necessária. Examine o sistema de ensaio observando o manual de operação do sistema. Se os resultados do controle de qualidade continuarem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Atendimento ao Cliente Mindray para obter ajuda.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração do analito de cada amostra na curva de calibração principal lida a partir do código de barras, e um Conjunto de Curva Logística de 4 Parâmetros (4PLC) com as unidades relativas de luz (RLUs) geradas a partir de calibradores de três níveis dos valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados em

ng/mL.

Fatores de conversão:
ng/mL x 3,467 = nmol/L

nmol/L x 0,288 = ng/mL

Valores esperados

Um extenso estudo sobre um Coorte de 301 mulheres grávidas saudáveis determinou o intervalo de referência do ensaio de E3 da série CL. A idade gestacional das amostras variou de 1 a 40 semanas. Tabela abaixo estão os intervalos centrais de 95% para cada faixa de semana gestacional.

Semana gestacional	N	Intervalo central de 95%
1-10	45	<0,1-0,2 ng/mL
11-25	125	0,2-5,8 ng/mL
26-28	24	2,2-7,6 ng/mL
29-32	27	3,5-8,9 ng/mL
33-36	24	4,9-15,7 ng/mL
37-38	34	6,0-24 ng/mL
39-40	22	8,2-24,2 ng/mL

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

Limitações

O limite superior deste ensaio é 30 ng/dL. Uma amostra com uma concentração de estriol menor do que o limite superior pode ser determinada quantitativamente, enquanto que uma amostra com uma concentração maior do que o limite superior será avaliada como >30 ng/mL.

A concentração de estriol numa dada amostra, determinada com ensaios de diferentes fabricantes, pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio, calibração e especificidade dos reagentes. Os resultados do ensaio devem ser utilizados em conjunto com outros dados, tais como sintomas, resultados de outros testes, história clínica, etc.

Espécime de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongo podem conter anticorpos anti-rato humano (HAMA). Estas amostras podem apresentar valores falsamente elevados ou baixos com kits de ensaio empregando anticorpos monoclonais de rato. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

Características de desempenho

Sensibilidade analítica/Limite de detecção

O kit reagente de E3 (CLIA) tem uma

sensibilidade analítica de $\leq 0,1$ ng/mL. A sensibilidade analítica é definida como a menor concentração de analito que pode ser diferenciado de uma amostra que não contém nenhum analito. É definida como a concentração de estriol em dois desvios padrão abaixo da média de 20 medições de RLU de uma amostra isenta de analito.

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 reagente de E3 (CLIA) é 0,1-30 ng/mL.

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL e triglicérides até 1800 mg/dL não vão interferir no ensaio de E3 da série CL. Estas substâncias mostraram menos de 10% de interferências na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada a partir de fator reumatóide até 100 UI/mL ou anticorpo antinuclear até 4000 U/L.

O Calibrador de Estriol Mindray C0 foi suplementado com outros reagentes potenciais cruzados, tal como os compostos conjugados de estriol e outros esteróides, a níveis específicos indicados na tabela abaixo. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada. Os resultados encontram-se na tabela abaixo.

Substância	Concentração de reatividade cruzada (ng/mL)	Cruzada Reatividade
Estriol-3 sulfato	50	2,64%
Estriol-3 β glucuronida	50	0,92%
Estriol-16 β glucuronida	50	0,02%
Estriol-17 β glucuronida	50	0,52%
17-Epiestriol	50	0,02%
β -Estradiol	50	0,00%
Estrona	50	0,00%
Sulfato de estrona	50	0,00%
Glucuronida de estrona	50	0,00%
Cortisol	50	0,10%
Progesterona	50	0,00%
Testosterona	50	0,00%
5 α -dihidrotestosterona	50	0,00%

Exatidão

Dois controles verdadeiros com valor rastreável e definido foi utilizado para verificar a precisão deste ensaio. Os

resultados mostraram que os desvios relativos foram inferiores a $\pm 10\%$. Os resultados são mostrados na tabela abaixo.

Amostra	E3 medido Valor (ng/mL)	E3 definido Valor (ng/mL)	Relativo Desvio
Nível 1	2,00	1,90	5,26%
Nível 2	13,89	13,63	1,91%

Precisão

O ensaio de E3 da série CL é projetado para ter uma precisão de $\leq 10\%$ (CV no dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Protocolo EP5-A2 do Comitê Nacional para Padrões de Laboratório Clínico (NCCLS). Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas experiências separadas por dia, por um total de 20 dias, utilizando-se um único lote de reagentes e uma única calibração. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	E3 médio (ng/mL)	No CV em execuções	Entre CV em execuções	No CV no dispositivo
1	1,11	4,99%	6,58%	8,51%
2	3,60	4,10%	4,53%	6,34%

Linearidade

Uma alta concentração de amostra de E3 (aproximadamente 20 ng/mL) foi misturada com uma amostra de concentração baixa (<0,2 ng/mL) em diferentes proporções, gerando uma série de diluições. O estriol de cada diluição foi determinado usando o ensaio de E3 da Série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada na gama de 0,2 ng/mL a 20 ng/mL, o coeficiente de correlação $r \geq 0,990$. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (ng/mL)	1	2	3	4	5	6
E3 esperado	0,014	1,78	3,21	2,48	16,63	20,79
E3 medido	0,014	0,38	3,33	12,47	16,31	20,79

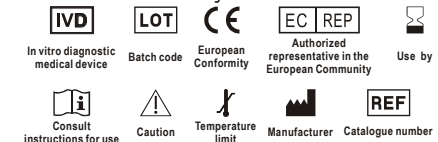
Comparação de métodos

O ensaio de E3 da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico disponível no mercado em um estudo de correlação com cerca de 199 espécimes. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação de Deming são mostrados na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (ng/mL)	Queda	Intercepto	Correlação Coeficiente
0,1-30	0,901	-0,089	0,963

Avisos e precauções

1. Apenas para diagnóstico in vitro.
2. Siga todas as regras de manipulação de reagentes laboratoriais e tome as precauções de segurança necessárias.
3. Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados do teste de uma mesma amostra podem ser diferentes ao usar kits de reagentes a partir de diferentes fabricantes, no sistema Mindray, ou usando kits de reagentes Mindray em outros sistemas.
4. Não utilize kits de reagentes vencidos.
5. Não utilizar reagentes misturados de diferentes lotes.
6. Sempre mantenha a embalagem do reagente na posição vertical, para garantir que não haja micropartícula perdida antes da utilização.
7. Pacote de reagente aberto por mais de 28 dias não é recomendado para uso.
8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções deste folheto não forem seguidas.
9. Todos os resíduos de amostras e de reação deverão ser considerados potencialmente de risco biológico. A manipulação das amostras e resíduos de reação deve estar de acordo com os regulamentos e orientações locais.
10. A Folha de Dados de Segurança de Material (MSDS) está disponível mediante solicitação.



Símbolos gráficos

Referências

1. Applied biochemistry of clinical disorders, 2nd Edition. 1986. Edited by Allan G Gornall, Philadelphia, PA; New York, NY: J. B. Lippincott Co., 507-508, 513.
2. Williams textbook of endocrinology, 8th Edition. 1992. Edited by Jean D Wilson and Daniel W Foster, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co., 983-985.

© 2013 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.

E-mail: service@mindray.com

Website: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Representantes da UE: 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: 80943610073

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