

ACTH

Hormônio adrenocorticotrópico (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
ACTH111	2 ×50 testes
ACTH112	2 ×100 testes
ACTH113	2 ×30 testes

Uso pretendido

O ensaio de ACTH da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação quantitativa de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) no plasma EDTA humano.

Resumo

O hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), também conhecido como corticotropina, é um hormônio trópico de polipeptídeo que consiste em 39 aminoácidos. É segregado pela glândula pituitária anterior como parte da molécula precursora pró-opiomelanocortina (POMC).¹

O ACTH é um componente importante do eixo hipotálamico-pituitário-adrenal. Com frequência, ele é produzido em resposta ao estresse biológico junto com seu precursor hormônio de liberação de corticotropina (CRH) do hipotálamo, e estimula a formação e a secreção de glucocorticóides (especialmente cortisol) pelo córtex adrenal. Os glucocorticóides de alta concentração no sangue inibem a secreção de CRH e ACTH por meio de um mecanismo de feedback negativo.^{2,3}

A determinação do ACTH é valiosa no diagnóstico diferencial da doença de Cushing pituitária (hipersecreção de ACTH), tumores pituitários de produção de ACTH autônomo (por exemplo, síndrome de Nelson), hipopituitarismo com deficiência de ACTH e síndrome de ACTH ectópica.^{4,5,6} Além da medição de cortisol, a determinação do ACTH pode ser usada junto com testes funcionais ou de estimulação para diagnosticar a origem da superprodução de glicocorticoide. A determinação do ACTH também pode ajudar a facilitar o diagnóstico diferencial da insuficiência adrenocortical (doença de Addison).

A concentração de ACTH do plasma mostra uma variação diurna com altos níveis de manhã e níveis baixos à noite. Assim como ocorre com o cortisol, é importante saber o tempo de coleta da amostra plasmática para interpretação dos resultados.

Princípio de ensaio

O ensaio de ACTH da série CL é um ensaio metaloceno de dois locais para determinar o nível de hormônio adrenocorticotrópico.

Na primeira etapa, a amostra e micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-ACTH monoclonal (camundongos) são adicionadas em uma cubeta de reação. Após a incubação, o ACTH presente na amostra se liga a micropartículas revestidas de anticorpo anti-ACTH. As micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por lavagem.

Na segunda etapa, a fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-ACTH (camundongos) é adicionada à cubeta de reação. Após a incubação, a fosfatase

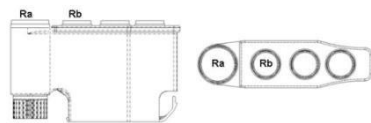
alcalina conjugada de anticorpo anti-ACTH (camundongos) se liga a outro local de reação do ACTH que se vinculou às micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-ACTH monoclonal para formar um metaloceno. As micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por lavagem.

Na terceira etapa, a solução do substrato é adicionada à cubeta de reação. Ela é catalisada pela fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-ACTH (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 ACTH presente na amostra é proporcional nas unidades de luz relativas (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de ACTH pode ser determinada via uma curva de calibração.

Componentes reagentes

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

O kit de reagente de ACTH (CLIA) pode ser armazenado onboard e usado por um máximo de 28 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.ACTH211: Calibradores de ACTH, 1×2,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

Cat.No.ACTH212: Calibradores de ACTH, 1×1,2 mL C0, 1×1,0 mL C1 e 1×1,0 mL C2.

Cat.No.ACTHL311: Controle de ACTH (C), 3×2,0 mL.

Cat.No.ACTHL311: Controle de ACTH (A), 3×2,0 mL.

Cat.No.ACTHL312: Controle de ACTH (C), 6×2,0 mL.

Cat.No.ACTHH312: Controle de ACTH (A), 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

Plasma EDTA humano é recomendável para este ensaio.

Colete todas as amostras sanguíneas em tubos de coleta pré-refrigerados observando as precauções de rotina para punção venosa. Apenas tubos de plástico ou de vidro silicados devem ser usados. Não use tubos de vidro não silicados, pois o ACTH pode ser absorvido e, portanto, a redução dos valores de ACTH da amostra pode ocorrer.¹ Depois de coletar o sangue, coloque os frascos no gelo imediatamente. Use uma centrífuga refrigerada para separar o plasma. Certifique-se de que a fibra 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 2 horas, as amostras deverão ser congeladas a 20°C ou abaixo. Evite o congelamento repetido e ciclos de descongelamento.

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 ACTH (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. Inspeccione 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 50 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do contêiner 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

O ACTH (CLIA) da série CL foi padronizado em relação

a um teste de ACTH comercial (CLIA).

As informações específicas do kit de reagente da curva de calibração principal de ACTH (CLIA) são armazenadas no código de barras bidimensional colado no pacote do reagente. Ele é usado em combinação com os calibradores de ACTH 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 de ACTH em três níveis. A curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de ACTH. 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 Controle de ACTH (C) e Controle de ACTH (A).

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 de ACTH dos valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados na unidade de pg/ml.

Valores esperados

Um estudo em um coorte de 384 indivíduos saudáveis (amostras coletadas às 7:00-10:00) determinou o intervalo de referência do ensaio de ACTH da série CL.

Categoria	Número de amostras	5 ^o -95 ^o Percentil
Saudáveis	384	7,0~65,0 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 ACTH 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.

A concentração de ACTH 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.

As amostras de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongos podem conter anticorpo humano anticamundongo (HAMA).⁷ Esses amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou reduzidos com kits de ensaio empregando anticorpos monoclonais de camundongos.^{8, 9} No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

Características de desempenho

Sensibilidade analítica/Limite de detecção

O kit de reagente de ACTH (CLIA) tem uma sensibilidade analítica de ≤ 1 pg/mL. A sensibilidade analítica é definida como a mais baixa concentração de analito que pode ser diferenciada de uma amostra que não contém analitos. Ela é definida como a concentração de ACTH em dois desvios-padrão acima da média de RLU de 20 medições de uma amostra sem 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 de reagente de ACTH (CLIA) é 1-2000 pg/mL.

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 10 mg/dL, triglicérides até 1500 mg/dL e proteína total até 6 g/dL não vão interferir com o ensaio de ACTH da série CL. Essas substâncias mostra menos de 10% de interferências na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada do fator reumatoide (até 200 IU/mL) ou anticorpo antinuclear. O calibrador de ACTH C0 atingiu o pico com outros reagentes cruzados potenciais em níveis específicos indicados na tabela abaixo. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada, pois todos os resultados foram $\leq 1\%$. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Marcador tumoral	Concentração de reagente cruzado (pg/mL)	Reatividade cruzada	Critérios de aceitação
ACTH 1-10	500000	0,01%	$\leq 1\%$
ACTH 11-24	500000	0,00%	
β -MSH	500000	0,00%	
β -endorfina	500000	0,01%	
ACTH 1-17	500000	0,01%	
ACTH 1-24	500000	0,01%	
ACTH 18-39	500000	0,01%	
ACTH 22-39	500000	0,01%	
α -MSH 1-13	500000	0,01%	

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 ACTH medido (pg/mL)	Valor de ACTH definido (pg/mL)	Desvio relativo
Nível 1	106,94	105,93	0,95%
Nível 2	1009,23	980,65	2,91%

Precisão

O ensaio de ACTH da série CL foi projetado para ter uma precisão de $\leq 10\%$ (dentro do CV do dispositivo). A precisão foi determinada seguindo-se o Protocolo EP5-A2 do Comitê Nacional para Laboratórios Clínicos (NCCLS).¹⁰ Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas execuções separadas por dia, durante 20 dias, usando um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de precisão estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	ACTH médio (pg/mL)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
1	103,50	4,55%	5,97%	8,48%
2	1013,48	4,62%	5,30%	7,97%

Linearidade

Uma amostra com alta concentração de ACTH (aproximadamente 2000 pg/mL) foi misturada com uma amostra de baixa concentração ($< 1,0$ pg/mL) em proporções diferentes, gerando uma série de diluições. O ACTH de cada diluição foi determinado com o uso do Ensaio de ACTH da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada no intervalo de 1,0 pg/mL a 2000 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 ACTH	0,72	374,51	862,43	1180,72	1524,22	2116,70
Medido ACTH	0,72	423,92	847,12	1270,32	1693,52	2116,70

Comparação de métodos

O Ensaio de ACTH da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico comercialmente disponível em um estudo de correlação com cerca de 379 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
1,0~2000	0,9848	2,1948	0,9934

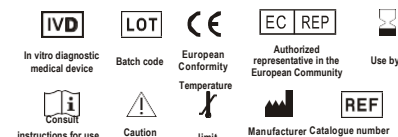
Avisos e precauções

- 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 28 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 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

- Talbot JA, Kane JW, White A. Analytical and clinical aspects of adrenocorticotrophin determination. Ann Clin Biochem, 2003, 40:453-471.
- Jacobson L. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis regulation. Endocrinol Metab Clin North Am, 2005, 34:271-292.
- Art W, Stewart PM. Adrenal corticosteroid biosynthesis, metabolism, and action. Endocrinol Metab Clin North Am, 2005, 34:293-313.
- Beauregard C, Dickstein G, Lacroix A. Classic and recent etiologies of Cushing's syndrome: diagnosis and therapy. Treat Endocrinol, 2002, 1:79-94.
- Lindsay JR, Nieman LK. Differential diagnosis and imaging in Cushing's syndrome. Endocrinol Metab Clin North Am, 2005, 34:403-421.
- Oliver RL, Davis JR, White A. Characterization of ACTH related peptides in ectopic Cushing's syndrome. Pituitary, 2003, 6:119-126.
- 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. All rights Reserved

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

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 - CRF/SP nº 34657

Cadastro ANVISA:

Assistência Técnica/SAC: 0800 8789 911

/sac.br@mindray.com