

rT3

Tri-iodotironina reversa (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
RT3111	2×50 testes
RT3112	2×100 testes

Use pretendido

O ensaio de Tri-iodotironina reversa da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação quantitativa de Tri-iodotironina reverso (rT3) sérico humano.

Resumo

A tri-iodotironina reversa (rT3) é um hormônio tireoidiano presente no nível sérico humano normal, que é convertido quando o T4 perde um iodo presente no anel de tirosina pela enzima 5-deiodinada no fígado, nos rins, na pituitária e no miocárdio. Cerca de 98% do rT3 está limitado a proteínas séricas. O nível de tri-iodotironina reversa sérica é significativamente diferente sob diferentes condições fisiológicas e patológicas.

O aumento da concentração de rT3 é comum no hipertireoidismo causado por vários motivos, que é basicamente, consistente com as alterações de T3 e T4 séricas. A diminuição da concentração de rT3 é comum no hipotireoidismo causado por vários motivos.

Algumas doenças não tireoidianas, como cirrose, coma hepático, doença renal, infarto do miocárdio, doenças graves respiratórias e digestivas, trauma, queimaduras, cirurgia e diabetes mellitus podem causar aumento significativo de rT3 e diminuição a relação T3/rT3. O indicador é importante para o julgamento da extensão e a observação do efeito curativo das doenças mencionadas acima.

O nível de rT3 no sangue do cordão umbilical e no fluido amniótico pode refletir o aumento do status da função da tireoide do feto durante a gravidez.

Princípio de ensaio

O ensaio de rT3 da série CL é um ensaio imunoenzimático de ligação competitiva para determinar o nível de tri-iodotironina reversa.

Na primeira etapa, amostra, o agente de liberação e a fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-rT3 são adicionados a uma cubeta de reação. Após a incubação, o agente de liberação desagrega a rT3 das proteínas de ligação. Na segunda etapa, a micropartícula revestida com estreptavidina e a rT3 biotinilada são adicionadas ao frasco de reação. A rT3 na amostra compete com a rT3 biotinilada pela fosfatase alcalina conjugada anti-rT3. Os complexos de anticorpo rT3 biotinilados são ligados às micropartículas revestidas com estreptavidina. As micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias são vinculadas são removidas por lavagem.

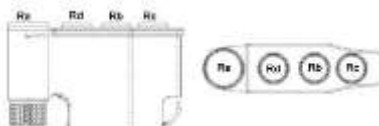
Na terceira etapa, a solução do substrato é adicionada ao veículo de reação. Ela é catalisada pela fosfatase alcalina de anticorpo anti-rT3 conjugada no imunocomplexo retido nas micropartículas. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades de luz relativas (RLUs) por um fotomultiplicador integrado no sistema. A quantidade de tri-iodotironina reversa presente na amostra é inversamente proporcional às unidades relativas de luz (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de tri-iodotironina

reversa pode ser determinada por meio de uma curva de calibração.

Componentes reagentes

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com estreptavidina no tampão TRIS com conservante.
Rb	Fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-rT3 em tampão MES com conservante.
Rc	rT3 biotinilada em tampão MES com conservante.
Rd	Ácido 8-Anilino-1-Naftalenossulfônico (ANS) em tampão TRIS 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 rT3 (CLIA) não aberto é estável até a data de expiração indicada quando armazenado a 2-8°C.

O kit de reagente de rT3 (CLIA) pode ser armazenado *onboard* e usado por no máximo de 28 dias após a abertura em 2-8°C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para uso

Rb: Pronto para uso

Rc: Pronto para uso

Rd: Pronto para uso

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analísador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray.

Nº do cat. RT3211: Calibradores de rT3, 1×1,0 ml para cada calibrador C0, C1 e C2.

Nº do cat. RT3L311: Controle de rT3 (L), 3×1,0 mL.

Nº do cat. RT3H311: Controle de rT3 (H), 3×1,0 mL.

Nº do cat. RT3L312: Controle de rT3 (L), 6×1,0 mL.

Nº do cat. RT3H312: Controle de rT3 (H), 6×1,0 mL.

N.º do cat. WB411: Tampão de lavagem, 1×10 L.

N.º do cat. CS511: Solução de substrato, 4×115 mL.

Nº do cat. CS512: Solução de substrato, 4×75 ml

Cubetas de reação

Instrumentos aplicáveis

Analísador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray.

Coleta e preparação da amostra

O soro humano é recomendável 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 aquelas 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 hemolisadas. Não use amostras inativadas por calor.

As amostras devem ser testadas assim que possível, após a coleta da amostra. Se o teste não for realizado em 8 horas, as amostras deverão ser armazenadas a 2-8°C ou em temperatura mais baixa. As amostras devem ficar estáveis por 12 horas a 2-8°C, 1 mês a -20°C. Evite mais de dois 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 rT3(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 20 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 na 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 rT3 (CLIA) da série CL foi padronizado de acordo com o material de referência nacional (150552-0004).

As informações específicas da curva de calibração principal do kit rT3 (CLIA) são armazenadas no código de barras bidimensional colado na embalagem do reagente. Ele é usado em combinação com os calibradores rT3 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 rT3 em três níveis. A curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste rT3. 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 rT3 (L) e Controle de rT3 (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 de rT3 com valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados na unidade de ng/mL.

Valores esperados

Um intervalo normal de 0,20 ng/mL a 0,95 ng/mL (intervalo central de 97,5%) foi obtido por meio do teste de amostras de soro de 166 indivíduos saudáveis.

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 10 ng/mL. Uma amostra com concentração de rT3 menor que o limite superior pode ser quantitativamente determinada, enquanto a amostra com uma concentração mais alta do que o limite superior será relatada como >10 ng/mL.

A concentração de rT3 em uma dada amostra, determinada com ensaios de fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças nos métodos do ensaio, na calibração e na 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 camundongo podem conter anticorpo humano anticamundongo (HAMA) 1. Essas amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou falsamente reduzidos com kits de ensaio que empregam anticorpos monoclonais de camundongo2, 3. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

Características de desempenho

Sensibilidade analítica/Limite de

detecção

O kit de reagente de rT3 (CLIA) tem um limite de branco de $\leq 0,05$ ng/mL. O Limite de branco é definido como a mais baixa concentração de analito que pode ser diferenciada de uma amostra que não contém analitos. Ele é definido como a concentração de rT3 em dois desvios-padrão abaixo 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 rT3 (CLIA) é 0,05-10 ng/mL.

Especificidade

Hemoglobina até 100 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicérides até 2000 mg/dL e proteína total até 10 g/dL não vão interferir com o ensaio de rT3 da série CL. Estas substâncias mostraram menos de 10% de interferência na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada do anticorpo antinuclear.

O Calibrador de rT3 C0 foi complementado com o rT3 análogo em níveis específicos indicados na tabela abaixo.

Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada. Os resultados estão informados na tabela abaixo.

Substância	Concentração do reagente cruzado	Reatividade cruzada
T3	1 µg/mL	$\leq 0,01\%$
T4	1 µg/mL	$\leq 0,01\%$
Ácido 3,3',5-Tri-iodotiroacético	1 µg/mL	$\leq 0,01\%$
3,5-Di-iodo-L-tironina	1 µg/mL	$\leq 0,01\%$
3,5-Di-iodo-L-tirosina	1 µg/mL	$\leq 0,01\%$
Sal sódico 3,3',5-Tri-iodo-L-tironina	1 µg/mL	$\leq 0,01\%$
3-Iodo-L-tirosina	1 µg/mL	$\leq 0,01\%$

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 rT3 medido (ng/mL)	Valor de rT3 definido (ng/mL)	Desvio relativo
Nível 1	0,83	0,82	1,22%
Nível 2	2,87	2,95	-2,71%

Precisão

O ensaio de rT3 da série CL foi projetado para ter uma precisão de $\leq 8\%$ (dentro do CV do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Comitê Nacional para Normas de Laboratórios Clínicos (NCCLS), Protocolo EP5-A². 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 rT3 (ng/mL)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
1	0,86	4,17%	4,91%	7,04%
2	3,29	3,09%	4,92%	7,10%

Linearidade

Uma amostra com alta concentração de rT3 (aproximadamente 10 ng/mL) foi misturada com uma amostra de baixa concentração ($< 0,05$ ng/mL) em proporções diferentes, gerando uma série de diluições. A rT3 de cada diluição foi determinada com o uso do ensaio de rT3 da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada no intervalo de 0,05 ng/mL a 10 ng/mL. O coeficiente de correlação r é $\geq 0,990$. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (ng/mL)	1	2	3	4	5	6
rT3 Esperado	0,03	1,91	4,06	6,48	8,12	10,48
rT3 Medido	0,03	2,12	4,21	6,30	8,39	10,48

Comparação de métodos

O ensaio rT3 da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico comercialmente disponível em um estudo de correlação com cerca de 320 amostras. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação Deming estão resumidos na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (ng/mL)	Inclinação	Interceptação	Coefficiente de correlação
0,05-10	0,9906	0,0155	0,9990

Avisos e precauções

1. Apenas para diagnóstico *in vitro*.
2. Siga todas as regras ao manusear reagentes de laboratório e adote as precauções de segurança necessárias.
3. 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.
4. Não use kits de reagentes com a data de expiração vencida.
5. Não use reagentes misturados de lotes diferentes.
6. Sempre mantenha o pacote de reagente na posição vertical para assegurar que nenhuma micropartícula seja perdida antes do uso.
7. Não é recomendável usar o pacote de reagente aberto a mais de 28 dias.
8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida se as instruções no encarte deste pacote não forem seguidas.
9. 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.

10. A folha de dados de segurança de material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos gráficos

Termos e condições de garantia: A Mindray do Brasil garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções de uso sejam seguidos corretamente.

Referências

1. Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988; 34:27-33.
2. Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.
3. Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.
4. 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

ANVISA nº: 80943610140

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