

INFORMÁTICA

CALIBRAÇÃO DE SISTEMAS ANALÍTICOS NÚMERO E NÍVEIS DE CALIBRADORES

1. DEFINIÇÕES

ANALITO OU MENSURANDO

Substância presente na amostra que é determinada por um sistema analítico.

CALIBRAÇÃO (OU AFERIÇÃO)

Conjunto de operações que estabelecem a relação quantitativa entre a resposta de um sistema analítico e os valores de concentração ou atividade de um analito.

INTERVALO OPERACIONAL

Intervalo de concentrações do analito que pode ser medido diretamente sem diluição adicional ou qualquer outro tratamento prévio da amostra, diferente do que foi definido no procedimento padrão para a determinação.

MEDIÇÃO

Conjunto de operações que tem por objetivo determinar um valor de uma grandeza (VIM - 2.1).

SISTEMA DE MEDIÇÃO OU SISTEMA ANALÍTICO

É o conjunto de um ou mais instrumentos de medição e frequentemente outros dispositivos incluindo reagentes, configurados para fornecer valores quantitativos de determinado analito, dentro de um intervalo especificado.

2. INTRODUÇÃO

Para a complementação de um diagnóstico, ou acompanhamento da evolução de uma doença, o médico tem à sua disposição o apoio do laboratório clínico que pode determinar a concentração ou a presença de um grande número de analitos. Os analitos de interesse são identificados ou medidos nas amostras dos pacientes utilizando sistemas analíticos constituídos por reagentes e instrumentos.

Os resultados das análises realizadas no laboratório podem ser qualitativos, semiquantitativos e quantitativos. Esses últimos requerem calibração e são provenientes de métodos analíticos que devem atender aos limites especificados de exatidão para que tenham utilidade médica.

O procedimento de calibração deve ser estabelecido considerando as características de desempenho inerentes a cada sistema de medição. A quantidade e a concentração dos calibradores devem ser definidas visando a obtenção da calibração com o menor custo sem comprometimento da exatidão do resultado.

3. SISTEMAS ANALÍTICOS QUANTITATIVOS

3.1 Características da resposta

Durante o desenvolvimento de um sistema analítico, a preocupação com a sensibilidade é de importância fundamental para se determinar com exatidão, concentrações do analito na região de maior interesse médico, os chamados níveis de decisão.

O estabelecimento de um intervalo operacional visando minimizar as repetições do teste em amostras com concentrações acima do limite superior do intervalo de referência, também deve ser priorizado.

Assim sendo, o sistema analítico deve ter a sensibilidade ajustada convenientemente para atender a necessidade da aplicação. De um modo geral, a imprecisão da medição ao longo do intervalo operacional varia de maneira inversa a intensidade da resposta do sistema.

Em relação à resposta frente à concentração do analito na amostra, os sistemas de medição quantitativos utilizados no laboratório clínico são caracterizados durante seu desenvolvimento como: **Lineares e Não Lineares** (Figura 1).

Sistemas analíticos **Não Lineares** são aqueles que, no intervalo operacional especificado, **não respondem** de modo **proporcional** à concentração do analito na amostra.

São caracterizados como **Lineares** os sistemas analíticos que, no intervalo operacional especificado, **respondem** de modo **proporcional** à concentração do analito na amostra.

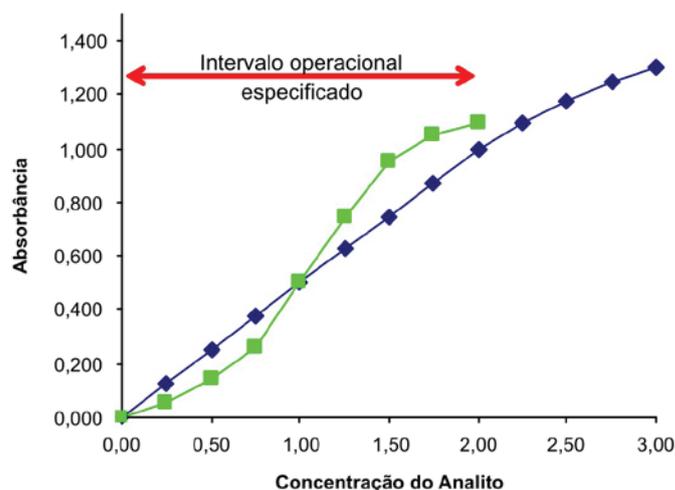


Fig.1-Gráfico representativo de resposta linear dentro do intervalo operacional especificado (linha azul) e de resposta não linear (linha verde).

3.2 Características da calibração

Para se obter a calibração, determina-se a resposta do sistema para amostras com concentrações conhecidas do analito, denominadas padrões ou calibradores. O correto número de calibradores é definido em função da resposta do sistema.

Em seguida, ao se estabelecer a relação entre as concentrações do analito nos calibradores e as respectivas respostas, obtém-se a calibração (Curva de calibração, Curva Padrão ou Fator de Calibração).

De maneira inversa, a concentração do analito em amostras de pacientes é determinada através da relação entre a resposta do sistema para estas amostras e a calibração.

3.2.1 Sistema Analítico Não Linear

A calibração em geral é obtida através da medição das respostas de quatro a seis níveis de calibradores.

É representada graficamente por uma curva e pode ser descrita por equações que representam as funções polinomial, logarítmica, exponencial, entre outras.

A quantidade e concentração dos calibradores são definidas de modo a conferir maior exatidão dos resultados principalmente nas faixas de concentrações de maior utilidade médica. Os pontos de calibração devem necessariamente compreender todo o intervalo operacional sendo que de um modo geral, o limite superior do intervalo operacional do sistema é estabelecido pela maior concentração do analito utilizada na calibração.

3.2.2 Sistema Analítico Linear

A calibração deste sistema é frequentemente obtida através da medição das respostas de dois ou mais níveis de calibradores. A calibração é representada graficamente por uma reta descrita pela equação $y = ax + b$.

y = concentração do analito na amostra do paciente;

a = coeficiente angular da equação da regressão (fator de calibração);

x = absorbância obtida para a amostra do paciente;

b = coeficiente linear da equação da regressão. O valor de b é um valor absoluto expresso em unidades do analito que está sendo determinado;

Quando o coeficiente linear (b) da equação da regressão da calibração multiponto de um sistema analítico **não é significativamente** diferente de zero, o resultado do teste é obtido pelo produto ax (figura. 2).

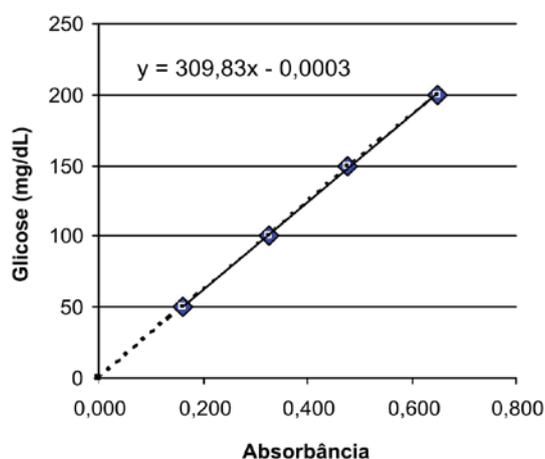


Fig. 2 – Gráfico da curva de calibração obtida pela medição de quatro calibradores com diferentes concentrações. O coeficiente linear (b) da equação da regressão da calibração não é significativamente diferente de zero.

Se o coeficiente linear (b) da equação da regressão da calibração multiponto de um sistema analítico **é significativamente** diferente de zero, o resultado do teste é obtido pela adição do valor de b ao produto ax (figura. 3).

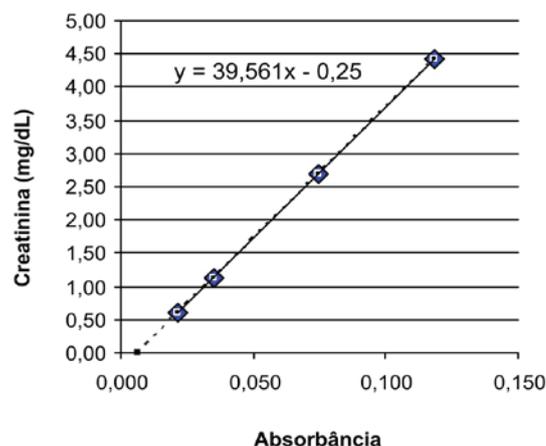


Fig. 3 – Gráfico da curva de calibração obtida pela medição de quatro calibradores com diferentes concentrações. O coeficiente linear (b) da equação da regressão da calibração é significativamente diferente de zero.

Em ambos os casos, a calibração poderá ser obtida apenas pela associação das medições de um calibrador com concentração do analito igual a zero (água, NaCl 150 mmol/L ou o(s) reagente(s)) e de um calibrador com concentração do analito capaz de produzir uma resposta fotométrica situada na região de baixa imprecisão do sistema analítico.

4. CONCLUSÃO

Sistemas analíticos Não Lineares

Devido à característica da resposta frente a diferentes concentrações do analito, estes sistemas analíticos são obrigatoriamente calibrados através do ensaio de quatro a seis níveis de calibradores. Portanto, alterar a quantidade ou a concentração dos calibradores estabelecidos para o procedimento de calibração pode comprometer a exatidão do sistema.

Sistemas analíticos Lineares

Por responderem de modo proporcional à concentração do analito na amostra, as respostas do sistema para apenas duas diferentes concentrações do analito são suficientes para a obtenção da calibração. A utilização de dois calibradores com significativa diferença de concentração entre si melhora a exatidão e diminui a variabilidade entre calibrações.

Assim sendo, a calibração pode ser obtida através da medição da resposta do sistema para um calibrador com concentração do analito igual a zero (água, NaCl 150 mmol/L ou apenas o(s) reagente(s)) e outro calibrador com concentração do analito situada na região de menor imprecisão do sistema. Considerando que a imprecisão do sistema varia de modo inverso a sua resposta, a concentração do analito para o calibrador de valor diferente de zero deve se situar na região intermediária do sistema operacional.

Este procedimento de calibração vem sendo utilizado com sucesso no Laboratório de Controle da Qualidade da Labtest, obtendo-se menor variabilidade entre diferentes calibrações.

A Labtest está recomendando utilizar o CALIBRA H como calibrador diferente de zero para a calibração de seus produtos que fornecem resposta linear. Com a aplicação do CALIBRA H, são evitados os efeitos indesejáveis da maior imprecisão da medição encontrada na região de menor intensidade da resposta do sistema.

A adoção do calibrador CALIBRA H, além de facilitar o trabalho durante o procedimento de calibração, possibilita redução de custos de aquisição e minimiza o trabalho de reconstituição e fracionamento em aliquotas.

Referências

1. Labtest – Dados de arquivo
2. Vocabulário Internacional de Metrologia – VIM
3. Systematic Comparison of Bias and Precision Data Obtained with Multiple-Point and one-Point Calibration in Six Validated Multianalyte Assays for Quantification of Drugs in Human Plasma. Anal. Chem. 2007, 79,4967-4976

Infotec – Informativo Técnico da Labtest

Tiragem: 1.000 exemplares
Distribuição gratuita

Equipe Labtest:

Presidente: Dra. Eliane Lustosa Cabral Gomez
Diretor de Inovação e Tecnologia: Márcio de Almeida Basques
Diretor Executivo: Tarcísio B. Vilhena Filho
Gerente de Produtos: Fulvio Facco
Diagramação e Editoração: Agência FALA! MINAS

LABTEST DIAGNÓSTICA S/A

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Lagoa Santa
Minas Gerais - Brasil. CEP 33400-000
Fone +55 (31) 3689-6900. SAC (DDG) 0800 031 34 11
E-mail: sac@labtest.com.br
www.labtest.com.br

Visitando nossa página na internet, seu laboratório dinamiza suas rotinas e consulta:

- Manuais de automação de diversos produtos
- POPs (Procedimentos Operacionais Padrão)
- Instruções de uso dos produtos Labtest
- Notícias sobre o mercado