

# C3 Turbiquest

Instruções de Uso

Ref.: **354**

ANVISA 10009010112

**Finalidade** . Sistema para determinação quantitativa do componente C3 do sistema complemento (C3) em amostras de soro ou plasma por imunoturbidimetria.

**Uso profissional.**

**[Somente para uso diagnóstico in vitro.]**

**Princípio** . Um anticorpo específico reage com o C3 presente na amostra levando à formação de agregados insolúveis. A intensidade da aglutinação, medida em absorbância, está relacionada à quantidade de C3, cuja concentração é obtida através de curva de calibração.

**Características do sistema** . A medida do componente C3 do sistema complemento é útil no diagnóstico de deficiência congênita deste e naquelas desordens imunológicas nas quais há consumo com consequente redução da concentração plasmática deste componente.

O produto C3 Turbiquest<sup>®</sup> utiliza o princípio da imunoturbidimetria, facilmente aplicável a analisadores automáticos capazes de medir absorbâncias em 600 nm, permitindo a realização da medição junto aos demais exames bioquímicos, sem necessidade de utilização de instrumentos dedicados. Além disso, a medição imunoturbidimétrica apresenta excelente desempenho operacional e permite a avaliação de grande número de amostras em curto intervalo de tempo. Todas estas características agregam maior praticidade e segurança para o usuário, além de propiciar maior agilidade e rapidez ao processo analítico.

**Metodologia** . Imunoturbidimetria.

## Reagentes

**1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2 e 8 °C. Pronto para uso.**

Contém tampão pH 7,5; cloreto de sódio 150 mmol/L e azida sódica  $\leq 0,095\%$ .

**2. [R2] - Reagente 2 - Armazenar entre 2 e 8 °C. Pronto para uso.**

Contém anticorpo anti-C3 humano e azida sódica  $\leq 0,095\%$ .

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Após abertos, os reagentes devem ser manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório para evitar contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

## Precauções e cuidados especiais

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes, os quais não devem ser pipetados com a boca.

Os reagentes contêm azida sódica que é tóxica. Não ingerir e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

## Material necessário e não fornecido

1. Analisador capaz de medir com exatidão absorbância em 600 nm.
2. Calibra Proteínas (Ref. 361) e Qualitrol Proteínas (Ref. 362) - Labtest.

## Amostra

Usar soro ou plasma (EDTA e Heparina). O analito é estável por 2 dias entre 2 e 8 °C. Armazenar em temperatura igual ou inferior a 20 °C negativos por até 30 dias em recipiente hermeticamente fechado para evitar evaporação. Assegurar que as amostras estejam descongeladas e homogeneizadas antes da sua utilização. Não utilizar amostras com sinais de contaminação ou amostras congeladas e descongeladas repetidas vezes.

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitam infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las devem-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico, sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

## Interferências

Concentrações de bilirrubina até 40 mg/dL, triglicérides até 1600 mg/dL, hemoglobina até 500 mg/dL e fator reumatóide até 800 UI/mL não produzem interferências significativas.

## Calibração

Utilizar o Calibra Proteínas Ref. 361. A concentração de C3 no calibrador é rastreável ao material de referência ERM<sup>®</sup> - DA470K/IFCC.

### Calibração de 6 pontos

Ponto 0: NaCl 150 mmol/L (0,85%)

Ponto 1 ao 5: Calibra Proteínas (Ref. 361) - Labtest

## Intervalo de calibrações

Quando o controle interno da qualidade indicar;

Quando utilizar novo lote de reagentes;

Quando utilizar novos frascos de reagentes de um mesmo lote, caso uma nova calibração tenha sido realizada durante a utilização do frasco anterior.

## Parâmetros para realização do teste

Parâmetros	Aplicação Birreagente
Tipo de Reação	Ponto final
Direção da Reação	Crescente
$\lambda$ de Onda primário	600 nm
$\lambda$ de Onda secundário	Não se aplica
Temperatura	37 °C
Calibração	6 pontos Ponto 0: Branco (NaCl 0,85%) Ponto 1: Calibra 1 Proteínas (Ref. 361.1) Ponto 2: Calibra 2 Proteínas (Ref. 361.2) Ponto 3: Calibra 3 Proteínas (Ref. 361.3) Ponto 4: Calibra 4 Proteínas (Ref. 361.4) Ponto 5: Calibra 5 Proteínas (Ref. 361.5)
Modelo da Calibração*	Não linear (Exponencial; Linear Ponto a Ponto)
Volume de Amostra**	2,5 $\mu$ L
Volume de R1**	200 $\mu$ L
Incubação a 37 °C	0 a 300 segundos, de acordo com o instrumento
Leitura 1 (Absorbância 1)	Realizar leitura antes de adição do R2
Volume de R2**	50 $\mu$ L
Incubação a 37 °C	300 segundos
Leitura 2 (Absorbância 2)	Realizar leitura após a adição do R2 e incubação a 37 °C

\*A definição de modelo de calibração deve ser adequada a cada modelo de equipamento. Em caso de dúvida entre em contato com o Serviço de Apoio ao Cliente Labtest.

\*\*Os volumes de amostra e reagentes podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a medição fotométrica.

**Intervalo operacional** . O sistema é capaz de determinar C3 em amostras com concentrações de 3 a ~ 500 mg/dL. O limite superior do intervalo é definido pela concentração do último calibrador da curva de calibração. Para concentrações maiores, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova determinação e multiplicar o resultado pelo fator da diluição.

**Controle interno da qualidade** . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Ao mesmo tempo deve-se manter um sistema definido para monitorar a variabilidade analítica que ocorre em todo o sistema de medição.

Materiais de controle devem ser utilizados para monitorar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Sugere-se que as especificações para o coeficiente de variação e o erro total sejam baseadas nos componentes da variação biológica (VB)<sup>1,2,3</sup>.

**Intervalo de referência**<sup>4</sup> . Estes valores devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, sua própria faixa de valores de referência.

Adultos (20 a 60 anos): 90 a 180 mg/dL

A concentração de C3 em neonatos é cerca de dois terços da concentração em adultos. Após a idade de 1 ano as concentrações são semelhantes às de adulto.

**Conversão** . Unidade convencional (mg/dL) x 0,01 = Unidades SI (g/L)

## Características do desempenho<sup>5</sup>

**Estudos de recuperação** . Em duas amostras com concentrações de Complemento 3 iguais a 95,9 mg/dL e 189,1 mg/dL foram adicionadas quantidades do analito, sendo obtidos os seguintes resultados:

Concentração (mg/dL)				Percentual de recuperação
Inicial	Adicionada	Esperada	Encontrada	
95,9	101,4	197,3	189,1	95,8%
189,1	202,8	391,9	377,1	96,2%

O erro sistemático proporcional médio estimado é igual a 2,0 mg/dL para o nível de decisão 50 mg/dL e 5,7 mg/dL para o nível de decisão 142 mg/dL.

**Estudos de comparação de métodos** . O método proposto foi comparado com método que utiliza tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	32	32
Intervalo de concentrações (mg/dL)	75,12 a 225,47	78,22 a 241,36
Equação da regressão	Método Labtest (mg/dL) = 1,0767 x Comparativo - 0,2084	
Coefficiente de correlação	0,999	

**Estudos de precisão** . Os estudos de precisão foram realizados utilizando duas amostras com concentrações iguais a 50 e 142 mg/dL.

## Repetitividade - Imprecisão intraensaio

	N	Média (mg/dL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	50	1,00	2,01
Amostra 2	20	142	1,75	1,24

## Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média (mg/dL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	50	1,24	2,49
Amostra 2	20	142	2,33	1,65

A imprecisão encontrada atende a especificação mínima para imprecisão total baseada nos componentes da Variação Biológica<sup>1</sup> que é  $\leq 3,9\%$ .

O erro total (erro aleatório + erro sistemático) estimado é igual a 11,37% para o nível de decisão 50 mg/dL e 10,24% para o nível de decisão 142 mg/dL. Os resultados indicam que o método atende à especificação mínima para erro total ( $\leq 12,6\%$ ) baseada nos componentes da Variação Biológica<sup>1</sup>.

**Sensibilidade metodológica** . Limite de detecção: 3,3 mg/dL. Equivale a 3 desvios padrão (DP) obtido a partir de 20 medições de uma amostra com concentração igual a 52 mg/dL.

**Efeitos da diluição da matriz** . Duas amostras com valores iguais a 377 e 448 mg/dL foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando fatores de diluição que variaram entre 2 e 8 foi encontrada recuperação média de 101,2%.

**Efeito prozona** . Não se observou efeito prozona em amostras com concentrações menores ou iguais a 1450 mg/dL.

**Significado clínico**<sup>4, 6, 7</sup> . O sistema complemento é o mediador primário da reação antígeno-anticorpo. Este consiste de pelo menos 30 proteínas plasmáticas com características químicas e imunológicas distintas capazes de interagir umas com as outras, com o anticorpo e com a membrana da célula. Após a ativação do sistema, estas interações geram atividades biológicas que variam desde a lise de diferentes tipos de células, bactérias e vírus até a mediação do processo inflamatório. Além disso, o sistema complemento é capaz de recrutar e atrair outros efetores humorais e celulares e induzir a liberação de histamina por mastócitos, migração de leucócitos, fagocitose e liberação de constituintes lisossomais de fagócitos.

Cada proteína do sistema complemento está normalmente presente no sangue como molécula funcionalmente inativa. Juntas, elas correspondem a 15% da fração de globulinas do plasma.

Existem duas vias independentes que levam à ativação do sistema complemento, denominadas clássica e alternativa, que são ativadas por diferentes substâncias. A via clássica é ativada pelo complexo antígeno-anticorpo enquanto a via alternativa é independente da reação antígeno-anticorpo, sendo geralmente ativada por ação de produtos bacterianos. Cada via envolve várias etapas de reação que convergem para a via comum do sistema.

As mudanças secundárias dos níveis dos componentes do complemento podem ocorrer em ambos os sentidos. Os aumentos se dão na reação de fase aguda, e as diminuições, nas doenças do complexo imunitário. Portanto, os níveis de C3 e C4 refletem um balanço entre o consumo do complemento, devido à formação do complexo imunitário, e a síntese aumentada, devido à resposta da fase aguda.

As doenças do complexo imunitário são distúrbios nos quais os complexos antígeno-anticorpo são formados e depositados nos tecidos, ou formados na circulação, tornando-se permanentemente ligados às células dos tecidos.

A medida da atividade total do sistema complemento ou de seus componentes, particularmente os componentes C3 e C4, que representam as duas vias de ativação, é útil no diagnóstico de deficiência congênita de componentes do sistema e de desordens imunológicas nas quais há consumo dos componentes com redução da concentração destes.

O componente C3 que corresponde a 70% do total de proteínas do sistema complemento, ocupa posição central na ativação de ambas as vias de ativação do sistema. A concentração sérica de C3 pode estar diminuída no lupus eritematoso sistêmico, especialmente nos casos de nefrite lúpica, glomerulonefrite por imunocomplexo, endocardite infecciosa e coagulação intravascular disseminada.

A deficiência hereditária de C3, apesar de rara, está associada com doenças imunes, particularmente glomerulonefrites membranoproliferativas, e com infecções graves e recorrentes, geralmente, por microrganismos encapsulados como *Staphylococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis*. Doenças como bacteremia, infecções pulmonares, meningites e impetigo, também podem apresentar concentrações baixas de C3. Baixas concentrações séricas de C3 são também observadas em casos de uremia, doença hepática crônica e doença celíaca.

## Observações

**1.** A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

**2.** O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágue final da vidraria, a água deve ter resistividade  $\geq 1$  megaohm.cm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens/cm e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

**3.** Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3ª edição, Washington: AACC Press, 1990.

## Referências

1. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Disponível em: [http://www.seqc.es/es/Sociedad/7/51/Base\\_de\\_datos\\_y\\_documentos\\_del\\_Comite\\_de\\_Garantia\\_de\\_la\\_Calidad\\_y\\_Acreditacion\\_%C3%93mite\\_de\\_Garantia\\_de\\_la\\_Calidad\\_y\\_Acreditacion\\_/>](http://www.seqc.es/es/Sociedad/7/51/Base_de_datos_y_documentos_del_Comite_de_Garantia_de_la_Calidad_y_Acreditacion_%C3%93mite_de_Garantia_de_la_Calidad_y_Acreditacion_/>) (acesso em 08/2012).

- Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4.ed. St. Louis: Saunders/Elsevier, 2006. p. 566-568, 2262.
- Labtest: Dados de Arquivo.
- Stites DP, Stobo JD, Wells JV. Basic & Clinical Immunology; Appleton & Lange, 1987.
- Jacobs DS, DeMott WR, Oxley DK. Laboratory Test Handbook, Lexi-Comp, 2001.

Estão disponíveis aplicações para sistemas automáticos e semiautomáticos.

O volume de reagente por teste em aplicações automáticas depende dos parâmetros de programação de cada equipamento.

## Informações ao consumidor

### [Termos e Condições de Garantia]

A Labtest Diagnóstica 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 sejam seguidos corretamente.

### Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33240-152

Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)

e-mail: [sac@labtest.com.br](mailto:sac@labtest.com.br)

Edição: Dezembro, 2005

Revisão: Outubro, 2012

Ref.: 280122(01)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.

Reprodução sob prévia autorização

## Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo
C3 Turbiquest	354-1/20	 1 X 16 mL
		 1 X 4 mL
C3 Turbiquest Labmax 560/400	354-1/32	 1 X 24 mL
		 1 X 8 mL

## Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro . Symbols used with ivd devices

	<b>Conteúdo suficiente para &lt; n &gt; testes</b> Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		<b>Consultar instruções de uso</b> Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		<b>Controle</b> Control Control		<b>Tóxico</b> Tóxico Poison
	<b>Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa)</b> Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		<b>Número do catálogo</b> Número de catálogo Catalog Number		<b>Controle negativo</b> Control negativo Negative control		<b>Reagente</b> Reactivo Reagent
	<b>Material Calibrador</b> Material Calibrador Calibrator Material		<b>Adições ou alterações significativas</b> Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		<b>Controle positivo</b> Control positivo Positive control		<b>Fabricado por</b> Elaborado por Manufactured by
	<b>Material Calibrador</b> Material Calibrador Calibrator Material		<b>Produto diagnóstico in vitro</b> Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		<b>Controle</b> Control Control		<b>Número do lote</b> Denominación de lote Batch code
	<b>Limite de temperatura (conservar a)</b> Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		<b>Liofilizado</b> Liofilizado Lyophilized		<b>Risco biológico</b> Riesgo biológico Biological risk		<b>Período após abertura</b> Periodo post-abertura Period after-opening
	<b>Representante Autorizado na Comunidade Europeia</b> Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		<b>Corrosivo</b> Corrosivo Corrosive		<b>Marca CE</b> Marcado CE CE Mark		<b>Uso veterinário</b> Uso veterinário Veterinary use
	<b>Instalar até</b> Instalar hasta Install before		<b>Fabricado em</b> Elaborado en Manufactured on		<b>Produto de uso único</b> Producto de un solo uso Single use product		

Ref.: 280322 |