

C4 Turbiquest

Instruções de Uso

Ref.: **355**

ANVISA 10009010113

Finalidade . Sistema para determinação quantitativa do componente 4 do sistema complemento (C4) em amostras de soro ou plasma por imunoturbidimetria.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . Um anticorpo específico reage com o C4 presente na amostra levando à formação de agregados insolúveis. A intensidade da aglutinação, medida em absorbância, está relacionada à quantidade de C4, cuja concentração é obtida através de curva de calibração.

Características do sistema . A medida do componente C4 do sistema complemento é útil no diagnóstico de indivíduos com deficiência congênita deste e naquelas desordens imunológicas nas quais há consumo com conseqüente redução da concentração plasmática deste componente.

O produto C4 Turbiquest[®] 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 - 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 - 8 °C. Pronto para uso.
Contém anticorpo anti-C4 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 usar 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 transmitem 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 500 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 C4 no calibrador é rastreável ao material de referência ERM[®] - 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 | |
| λ de Onda primário | 600 nm | |
| λ de Onda secundária | 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** | 4 μ L |
| | Volume de R1** | 240 μ 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** | 60 μ 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 C4 em amostras com concentrações de 0,8 a ~ 90 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 obtido 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)^{1,2,3}.

Intervalo de referência⁴ . 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 . 10,0 a 40,0 mg/dL

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

Características do desempenho⁵

Estudos de recuperação . Em duas amostras com concentrações de Complemento 4 iguais a 11,2 mg/dL e 22,7 mg/dL foram adicionadas quantidades do analito, sendo obtidos os seguintes resultados:

| | Concentração (mg/dL) | | | | Percentual de recuperação |
|--|----------------------|------------|----------|------------|---------------------------|
| | Inicial | Adicionada | Esperada | Encontrada | |
| | 11,2 | 11,0 | 22,2 | 22,7 | 102,3% |
| | 22,7 | 22,0 | 44,7 | 48,4 | 108,3% |

O erro sistemático proporcional médio estimado é igual a 0,5 mg/dL para o nível de decisão 10 mg/dL e 0,9 mg/dL para o nível de decisão 18 mg/dL.

Estudos de comparação . 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) | 11,36 a 53,01 | 7,85 a 52,19 |
| Equação da regressão | Método Labtest (mg/dL) = 0,9723 x Comparativo - 0,3869 | |
| Coefficiente de correlação | 0,996 | |

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático total (bias) estimado é igual 6,6% para o nível de decisão 10 mg/dL e 4,9% para o nível de decisão de 18 mg/dL. Esses erros são menores que o erro sistemático analítico da especificação desejável baseada nos componentes da VB que é $\leq \pm 8,6\%$.

Estudos de precisão . Os estudos de precisão foram realizados utilizando duas amostras com concentrações iguais a 10 e 18 mg/dL.

Repetitividade - Imprecisão intraensaio

| | N | Média (mg/dL) | DP | CV (%) |
|-----------|----|---------------|------|--------|
| Amostra 1 | 20 | 10 | 0,37 | 3,55 |
| Amostra 2 | 20 | 18 | 0,42 | 2,31 |

Reprodutibilidade - Imprecisão total

| | N | Média (mg/dL) | DP | CV (%) |
|-----------|----|---------------|------|--------|
| Amostra 1 | 20 | 10 | 0,53 | 5,08 |
| Amostra 2 | 20 | 18 | 0,64 | 3,52 |

O erro total (erro aleatório + erro sistemático) estimado é igual a 15,01% para o nível de decisão 10 mg/dL e 10,73% para o nível de decisão 18 mg/dL. Os resultados indicam que o método atende à especificação desejável para erro total ($\leq 16\%$) baseada nos componentes da Variação Biológica¹.

Sensibilidade metodológica . Limite de detecção: 0,8 mg/dL. Equivale a 3 desvios padrão (DP) obtido a partir de 20 medições de uma amostra com concentração igual a 11 mg/dL.

Efeitos da diluição da matriz . Duas amostras com valores iguais a 48 e 73 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 94,4%.

Efeito prozona . Não se observou efeito prozona em amostras com concentrações menores ou iguais a 380 mg/dL.

Significado clínico^{4, 6, 7} . O sistema complemento é o mediador primário da reação antígeno-anticorpo. Este consiste de pelo menos 30 proteínas plasmáticas com características química e imunológica 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.

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 indivíduos com deficiência congênita de componentes do sistema e naquelas desordens imunológicas nas quais há consumo dos componentes com redução da concentração destes.

O componente C4 participa apenas da via clássica do sistema, portanto, sua concentração estará diminuída somente nas desordens em que há ativação desta via. Estas desordens incluem lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide, doença do soro, algumas glomerulonefrites, hepatites crônicas, crioglobulinemia, doença do imunocomplexo e angioedema hereditário. Níveis séricos de C4 são marcadores sensíveis da atividade inflamatória do lúpus eritematoso sistêmico e da glomerulonefrite proliferativa. Pode haver aumento da concentração sérica na anemia hemolítica autoimune.

A deficiência de C4 está associada à elevada incidência de infecções bacterianas, particularmente, por microrganismos encapsulados como *Staphylococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis*.

Observações

1. 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 ≥ 1 megaohm.cm ou condutividade \leq 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.

2. 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

- 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_%7C_Comite_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. 568-569, 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.

Apresentação

| Produto | Referência | Conteúdo | |
|---------------------------------|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| C4 Turbiquest | 355-1/24 |  1 X 19 mL | |
| | |  1 X 5 mL | |
| C4 Turbiquest Labmax 560/400 | 355-1/32 |  1 X 24 mL | |
| | |  1 X 8 mL | |

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

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

e-mail: sac@labtest.com.br

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.

Edição: -
Revisão: Março, 2013
Ref.: 280122(01)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

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

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

Ref.: 140214 |