

Anti-TPO Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: **4054**

ANVISA 10009010420

REF 4054-50, 50 testes/kit
REF 4054-100, 100 testes/kit

Uso pretendido. Detecção quantitativa de auto-anticorpos IgG da tireoide peroxidase (anti-TPO) em amostras de soro humano, para auxiliar no diagnóstico de doenças autoimunes da tireóide.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro]

Analizador. Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo. A tireoide peroxidase (TPO) é uma enzima importante no processo de síntese dos hormônios tireoidianos e que catalisa a oxidação do iodo, o acoplamento da tirosina à tireoglobulina e a produção final dos hormônios tireoidianos T3 e T4. O anticorpo para TPO (anti-TPO) é produzido pelas células B no centro germinativo dos folículos linfáticos no tecido tireoidiano¹. O anti-TPO é um tipo de anticorpo destrutivo de imunoglobulinas, que pode inibir a síntese do hormônio tireoidiano ao inibir a atividade da TPO e eventualmente levar ao hipotireoidismo². Anti-TPO positivo indica infiltração de linfócitos tireoidianos e destruição das células tireoidianas. O aumento dos títulos de anti-TPO frequentemente prediz disfunção tireoidiana e o teste de anti-TPO é frequentemente usado no diagnóstico etiológico do hipotireoidismo primário^{3,4}. O anti-TPO também tem sido associado a diabetes, anemia perniciosa, urticária, doença do tecido conjuntivo, câncer de mama, doença inflamatória intestinal, distúrbios psicológicos, rinite alérgica, síndrome dos ovários policísticos, vasculite sistêmica, infertilidade, etc.^{5,6}

Princípio do teste. O ensaio anti-TPO é um imunoenensaio com princípio "sanduíche" para determinar a presença de anti-TPO no soro humano usando a tecnologia de imunoenensaio por quimioluminescência (CLIA). Na primeira etapa, a amostra (automaticamente pré-diluída na proporção de 1:50 em Sample Diluent A Ref. 4060) e as micropartículas paramagnéticas revestidas com TPO são combinadas e incubadas. O anti-TPO presente na amostra se liga as micropartículas paramagnéticas revestidas com TPO. Após a lavagem, o conjugado anti-IgG humano marcado com acridina é adicionado na segunda etapa. Os anticorpos marcados com acridina que não se ligaram são removidos por outra etapa de lavagem. Por fim, as soluções Pre-Trigger e Trigger são adicionadas à mistura de reação e a reação quimioluminescente resultante é medida como Unidades Relativas de Luz (RLUs).

Existe uma relação direta entre a quantidade de anti-TPO presente na amostra e as RLUs detectadas pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest. Os reagentes são calibrados por uma *Master Curve*, disponibilizada via *QR Code* e adaptada ao analisador por meio de 2 calibradores que acompanham o kit.

Reagentes

Reagentes - soluções de trabalho

REF	4054-50	4054-100
Testes por kit	50	100
R1	6,0 mL	11,0 mL
R2	6,0 mL	11,0 mL
M	3,5 mL	6,0 mL
CAL1	1,0 mL	1,0 mL
CAL2	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 1	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 2	1,0 mL	1,0 mL
Tampas de silicone	3	3

R1 - Conjugado Anti-IgG humano marcado com acridina em tampão fosfato com estabilizante proteico. Conservante: agente antimicrobiano.

R2 - Tampão Tris com surfactante. Conservante: agente antimicrobiano.

M - Micropartículas revestidas com TPO em tampão Tris com estabilizante proteico. Conservante: azida de sódio 0,1%.

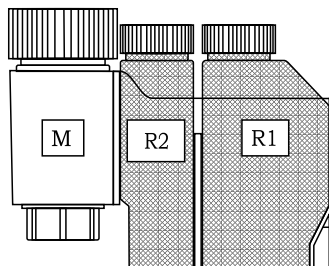
CAL1 - Preparação liofilizada. Anticorpo Anti-TPO em tampão Tris com estabilizante proteico. Conservante: azida de sódio 0,1%.

CAL2 - Preparação liofilizada. Anticorpo Anti-TPO em tampão Tris com estabilizante proteico. Conservante: azida de sódio 0,1%.

CONTROL 1 - Controle Positivo 1 (nível baixo): preparação liofilizada, anticorpo anti-TPO em tampão Tris com estabilizante proteico. Conservante: azida de sódio 0,1%.*

CONTROL 2 - Controle Positivo 2 (nível alto): preparação liofilizada, anticorpo anti-TPO em tampão Tris com estabilizante proteico. Conservante: azida de sódio 0,1%.*

*Para média e intervalo, ver item Valores especificados para os controle



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico in vitro.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manipular todos os reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.
- Ficha de segurança disponível no site www.labtest.com.br.
- Evite a formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostras, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados corretos.
- Não misture lotes de reagentes.
- A rack deve ser mantida na posição vertical.
- Não separar o volume dos componentes R1, R2 e M do kit em aliquotas.

Precauções de segurança

Cuidado. Este produto exige a manipulação de amostras humanas. É recomendado que todas os materiais obtidos de humanos sejam considerados potencialmente infecciosos. Biossegurança de nível 2 ou outras práticas de biossegurança apropriadas devem ser usadas para materiais que contenham ou que haja suspeita que contenham agentes infecciosos.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspendidas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Substitua a tampa original dos reagentes R1, R2 e M pelas tampas de silicone antes de inserir a rack de reagentes no equipamento.
4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e armazenamento do kit.
5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.
6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Preparação dos controles e calibradores. Dissolver cuidadosamente o conteúdo de cada calibrador ou frasco de controle adicionando a correta quantidade de água destilada ou deionizada. Manter o frasco em repouso fechado por 15 minutos para sua reconstituição. Misturar cuidadosamente, evitando a formação de espuma. Colocar os calibradores e controles na rack verde dedicada para frascos liofilizados e teste no equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência da marca Labtest.

Atenção: Nos casos em que sejam feitas aliquotas dos calibradores e controles reconstituídos, deve-se manter a embalagem original para a leitura do código de barras pelo equipamento. O volume da aliquota deve considerar o volume necessário por teste e o volume morto e/ou adicional descritos no manual do equipamento.

A quantidade de água destilada ou deionizada para reconstituição dos calibradores e controles é listada abaixo:

REF	4054-50	4054-100
CAL 1	1,0 mL	1,0 mL
CAL 2	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 1	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 2	1,0 mL	1,0 mL

Armazenamento e estabilidade. Não congele. Armazene o Anti-TPO Reagent Kit Ref. 4054 na **posição vertical** para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento da rack de reagentes, realizar nova calibração e conferir a recuperação dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade:

Fechado a 2 - 8 °C	até a data de validade apresentada
Aberto a 2 - 8 °C	45 dias
On board	28 dias

Os calibradores e controles liofilizados são estáveis até a data de validade apresentada.

Estabilidade dos calibradores / controles reconstituídos:

Armazenado a 2 - 8 °C	14 dias
Armazenado a -20 °C (± 5 °C)	46 dias (evite congelar ou descongelar mais de 1 vez)
On board	2 horas

Indicações de deterioração dos reagentes. A deterioração de reagentes pode ser indicada quando ocorrer um erro de calibração ou um valor de controle estiver fora da faixa especificada. Os resultados dos testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente. A recalibração do ensaio pode ser necessária.

Coleta e preparação de amostras. Utilizar soro. Estável por 8 horas a 20-25 °C, 72 horas a 2-8 °C, 30 dias a -10 °C (± 5 °C). Amostras que passaram por um ciclo de congelamento/ descongelamento foram avaliadas e os resultados foram satisfatórios. Amostras contendo precipitados devem ser centrifugadas antes da execução do ensaio. Para resultados exatos, amostras de soro devem estar sem fibrina, hemácias e outros materiais particulados. Amostras de soro de pacientes recebendo terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina, devido à formação incompleta de coágulo. Verifique se as amostras, calibradores e controles estão entre 20-25 °C antes da medição. Devido a possíveis efeitos de evaporação, amostras, calibradores e controles nos analisadores devem ser analisados/medidos em até 2 horas.

Procedimento

Materiais fornecidos . Consulte a seção “Reagentes - soluções de trabalho” para reagentes.

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001 ou Wash Buffer Ref. 4100
2. Trigger Solution Ref. 4002
3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004
5. Sample Diluent A Ref. 4060
6. Água destilada ou deionizada.
7. Cubetas e reação para equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Procedimento de Ensaio . Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR Code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções específicas do analisador. Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes. O volume de amostra necessário para um teste é 10 µL sem considerar o volume morto e o volume adicional na pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Calibração . Rastreabilidade: este método é rastreável ao 1 Standard WHO RS 19/260. Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas, sem calibração posterior, a não ser que:

- Um kit de reagente com um novo número de lote seja utilizado.
- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos.
- Depois de 14 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente.
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade . O requisito de controle recomendado para o ensaio anti-TPO é que uma amostra simples de cada nível de controle seja testada uma vez a cada 24 horas a cada dia de uso. Os intervalos e limites de controle devem ser adaptados para cada requisito individual de laboratório. Os valores obtidos devem estar dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer medidas corretivas que devem ser tomadas, se os valores estiverem fora dos limites definidos. Se necessário, repita a medição das amostras em questão. Siga regulamentações governamentais e diretrizes locais aplicáveis para controle da qualidade, por exemplo “*Basic QC Practices*” (“Práticas básicas de CQ”), de James O. Westgard, para obter recomendações sobre as práticas de controle da qualidade de laboratório.

Valores especificados para os controles . Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser encontrados após a leitura de seu *QR Code*, presente na rack de reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura do *QR Code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (*Upper Limit*), o inferior LL (*Lower Limit*) e a média (*Target*), deve-se selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.

Para outros modelos de equipamentos, dedicados aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de análise de cada lote do produto que está disponível no site www.labtest.com.br.

Resultados

Cálculo . O ensaio Anti-TPO utiliza um método de redução de dados de adequação de curva logística de 4 parâmetros (4PLC, ponderado Y) para gerar a calibração e os resultados.

Limitações do procedimento

- Os resultados devem ser usados em conjunto com outros dados. Por exemplo, sintomas, resultados de outros testes e impressões clínicas.
- Se os resultados de Anti-TPO forem inconsistentes com evidências clínicas, testes adicionais são recomendados.
- Anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com imunoglobulinas de reagentes, interferindo em imunoenaios in vitro. Pacientes expostos rotineiramente a animais ou produtos séricos de animais podem estar sujeitos a essa interferência e valores anômalos podem ser observados. Informações adicionais podem ser necessárias para diagnóstico.

Características de desempenho . Dados representativos de desempenho são apresentados nesta seção. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

Limites inferiores de medição . Limite de quantificação de 3,00 UI/mL foi obtido utilizando a menor concentração de analito que pode ser medida de forma reprodutível com um CV de precisão intermediária ≤ 20%.

Faixa de medição . 3,00-1000,00 UI/mL (com base nas recomendações do CLSI EP06-A). Os valores abaixo do limite de detecção são reportados como < 3,00 UI/mL. Os valores acima da faixa de medição são reportados como > 1000,00 UI/mL.

Estudo de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método de tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	100	
Equação	Método Labtest = 0,994 x Método comparativo - 0,0501	
Coefficiente de correlação	0,9819	

Valores esperados . Os valores esperados de Anti-TPO foram obtidos a partir de amostras de soro de 120 indivíduos saudáveis: $\leq 5,61$ UI/mL para 95% dos resultados.

Cada laboratório deve investigar a transferibilidade dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar suas próprias faixas de referência.

Precisão . A precisão foi determinada utilizando o Anti-TPO Reagent Kit Ref. 4054 e amostras de soro humano agrupadas e controles, de acordo com o protocolo (EP15-A3) do CLSI (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais): amostras testadas 5 vezes por dia por um período de 5 dias (n=25). Repetibilidade: $CV \leq 10\%$ e imprecisão intra-laboratorial $CV \leq 10\%$.

Interferência

O Anti-TPO Reagent Kit Ref. 4054 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir:

Substância potencialmente interferente	Concentrações testadas
Hemoglobina	≤ 500 mg/dL
Bilirrubina	≤ 30 mg/dL
Triglicérides	≤ 1000 mg/dL
Albumina	≤ 10 g/dL

Referências

- Segundo, C., Rodríguez C., Aguilar M., et al. Differences in thyroid-infiltrating B lymphocytes in patients with Graves' disease: relationship to autoantibody detection. Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc. 14, 337–344 (2004).
- McLachlan, S. M., Rapoport, B. Thyroid peroxidase as an autoantigen. Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc. 17, 939–948 (2007).
- Vanderpump, M. P., Tunbridge, W. M., French, J. M., et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey. Clin. Endocrinol. (Oxf.) 43, 55–68 (1995).
- Sinclair, D. Clinical and laboratory aspects of thyroid autoantibodies. Ann. Clin. Biochem. 43, 173–183 (2006).
- Engler, H., Riesen, W. F., Keller, B. Anti-thyroid peroxidase (anti-TPO) antibodies in thyroid diseases, non-thyroidal illness and controls. Clinical validity of a new commercial method for detection of anti-TPO (thyroid microsomal) autoantibodies. Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem. 225, 123–136 (1994).
- Chardès, T., Chapal, N., Bresson, D., et al. The human anti-thyroid peroxidase autoantibody repertoire in Graves' and Hashimoto's autoimmune thyroid diseases. Immunogenetics 54, 141–157 (2002).
- Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, 4nd Edition, W.B. Saunders, 2006.

- Männistö T, Surcel HM, Bloigu A, Ruokonen A, Hartikainen AL, Järvelin MR, Pouta A, Väärasmäki M, Suvanto-Luukkonen E. The effect of freezing, thawing, and short- and long-term storage on serum thyrotropin, thyroid hormones, and thyroid autoantibodies: implications for analyzing samples stored in serum banks. Clin Chem. 2007 Nov; 53(11):1986-7. doi: 10.1373/clinchem.2007.091371. PMID: 17954505.

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

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
Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

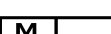
Edição: Janeiro, 2024
Revisão: Setembro, 2024
Ref.: 240725(02)

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 > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Instalar até Instalar hasta Install before		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment

Ref.: 160125 |