

Para utilizar no diagnóstico *in vitro***REVISÃO ANUAL**

Revisto por:	Data	Revisto por:	Data

PRINCÍPIO**APLICAÇÃO**

O reagente AT3, quando utilizado em conjunto com Sistemas de Imunoquímica IMMAGE® e Calibrador 2, destina-se à determinação quantitativa de Antitrombina III (AT3) no plasma humano com base na taxa de nefelometria. Neste processo mede-se apenas a concentração de antitrombina III e não a sua actividade.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A antitrombina III actua inibindo a coagulação e constitui um importante indicador do risco trombótico. Observou-se uma redução dos níveis de antitrombina III em doenças hepáticas, em mulheres que tomam contraceptivos orais e como característica hereditária autossómica dominante.

METODOLOGIA

O teste AT3 determina a taxa de aumento da dispersão da luz causada por partículas em suspensão numa solução, como resultado dos complexos formados durante uma reacção antigénio-anticorpo.

ESQUEMA DA REACÇÃO QUÍMICA

PT011309L.EPS

AMOSTRA**TIPO DE AMOSTRA**

O plasma é a amostra recomendada.

Na determinação deste analito, podem ser utilizados tanto plasma-EDTA, como plasma citratado (1:9, v/v). As amostras de plasma para teste devem ser colhidas de acordo com o procedimento de rotina usado em qualquer teste clínico laboratorial.¹ É preferível utilizar plasma de colheita recente obtida a partir de um indivíduo em jejum. Não se recomenda a utilização de amostras de soro.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DA AMOSTRA

As amostras de plasma podem ser armazenadas a temperaturas entre +2°C e +8°C, durante um máximo de 72 horas. As amostras de plasma não devem ser congeladas.

Condições adicionais de armazenamento e estabilidade das amostras, designadas por este laboratório:

VOLUME DE AMOSTRA

Para mais informações sobre os volumes de amostras consulte o Modelo de Amostragem.

CRITÉRIOS PARA REJEIÇÃO DE AMOSTRAS

Consulte a secção NOTAS SOBRE PROCEDIMENTOS desta ficha de informação química.

Critérios de rejeição da amostra estabelecidos por este laboratório:

PREPARAÇÃO DO DOENTE

Instruções especiais para preparação de amostras de doentes, definidas por este laboratório:

MANUSEAMENTO DAS AMOSTRAS

Instruções especiais para manuseamento de amostras, definidas por este laboratório:

REAGENTES

CONTEÚDO

Cada conjunto contém os seguintes elementos:

COMPONENTES DO CONJUNTO	QUANTIDADE
Cartucho de AT3	1
Anticorpo	
Tampas de evaporação	2
Cartão de código de barras do reagente de AT3	1

VOLUMES INICIAIS DE AMOSTRA E DE REAGENTES NA CUVETE

Volume da amostra	7,9 µL
Volume Total de Reagente	310,6 µL
Anticorpo	21 µL
Tampão 1	250 µL
Diluyente 2	39,6 µL

INGREDIENTES REACTIVOS

CONSTITUINTES DO CARTUCHO DE REAGENTES	VOLUME
Anticorpo AT3 (anticorpo anti-Antitrombina III policlonal; cabra)	3,9 mL
Azida sódica (usada como conservante)	< 0,1% (p/p)

Contém também componentes químicos não reactivos necessários para um desempenho óptimo do sistema.

 CUIDADO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consultar o boletim do National Institute for Occupational Safety & Health: Explosive Azide Hazards (8/16/76)

 CUIDADO

Embora não seja constituído por substâncias de origem humana, este produto poderá entrar em contacto com soro humano durante o processamento. Este material e todas as amostras de doentes devem ser manuseados como potenciais transmissores de doenças infecciosas. A FDA (United States Food and Drug Administration) recomenda que tais amostras sejam manuseadas conforme especificado nas orientações do Nível 2 de Segurança Biológica dos Centros de Controlo de Doenças.²

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS COM O CONJUNTO DE REAGENTES

Solução de lavagem dos Sistemas de Imunoquímica IMAGE
 Solução tampão 1 dos Sistemas de Imunoquímica IMAGE
 Diluyente 2 dos Sistemas de Imunoquímica IMAGE
 Calibrador 2
 Dispositivo de centrifugação com capacidade para 90 000 x g
 Pelo menos dois níveis de material de controlo

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

1. Inverta o cartucho suavemente, antes de retirar as tampas de rosca.

2. Retire as tampas de rosca dos cartuchos de reagentes. Verifique cada cartucho para ver se existem bolhas e retire as bolhas existentes.
3. Coloque as tampas de evaporação em ambos os compartimentos do cartucho de reagentes antes de carregar o cartucho no aparelho. Consulte os Anexos para mais informações sobre as tampas de evaporação.
4. Os cartuchos de reagentes deverão ser armazenados na vertical e podem ser retirados do frigorífico e utilizados logo em seguida.
5. Misture bem todas as soluções tampão e os diluentes, invertendo os recipientes. Retire a tampa de rosca do recipiente. Verifique cada recipiente para ver se existem bolhas e retire as bolhas existentes. Coloque a tampa de evaporação no recipiente antes de carregar o recipiente no aparelho. Consulte os Anexos para mais informações sobre as tampas de evaporação.

DESEMPENHO ACEITÁVEL DO REAGENTE

A aceitabilidade de um reagente é determinada pelo desempenho com sucesso dos testes de controlo de qualidade, como está definido na secção de CONTROLO DE QUALIDADE desta ficha de informação química.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DO REAGENTE

As condições de armazenamento que não as recomendadas poderão provocar resultados erróneos.

Cartuchos de Reagentes

1. Volte a colocar todos os cartuchos de reagentes no frigorífico (+2°C e +8°C) uma vez concluída a carga de trabalho diária.
2. Os reagentes AT3 permanecem estáveis durante 14 dias com as tampas de evaporação colocadas. Em alternativa, o prazo de validade dos reagentes pode ser maximizado substituindo as tampas de evaporação por tampas de rosca e armazenando-os a uma temperatura entre +2°C e +8°C uma vez concluída a carga de trabalho diária.
3. O reagente de AT3 é estável até ao fim do prazo de validade indicado no rótulo, desde que armazenado a temperaturas entre +2°C e +8°C, tapado com a tampa de rosca.

Diluyente 2 e solução tampão 1

1. O diluyente 2 e a solução tampão 1 permanecem estáveis no sistema durante 30 dias com as tampas de evaporação colocadas.
2. O diluyente 2 e a solução tampão 1 permanecem estáveis até ao final do prazo de validade indicado no rótulo, se forem armazenados à temperatura ambiente com as tampas de evaporação colocadas.

Local de armazenamento do reagente:

CALIBRAÇÃO

CALIBRADOR NECESSÁRIO

Calibrador 2

PREPARAÇÃO DO CALIBRADOR

O Calibrador 2 deverá atingir a temperatura ambiente antes de ser utilizado. Reconstitua o Calibrador 2 com 1,0 ml de água destilada e, em seguida, deixe em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture por inversão antes de utilizar.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DO CALIBRADOR

O Calibrador 2 é estável até ao fim do prazo de validade impresso no respectivo frasco, se for armazenado tapado a uma temperatura entre +2°C e +8°C. Após a reconstituição, o calibrador é estável durante 1 mês a temperaturas entre +2°C e +8°C, durante 4 meses a temperaturas entre -15°C e -20°C ou até ao fim do prazo de validade, se este for anterior.

Local de armazenamento do calibrador:



CUIDADO

Este produto é de origem humana, pelo que deve ser manuseado como potencial transmissor de doenças infecciosas. Todas as unidades de soro ou plasma provenientes de dadores e utilizadas na preparação deste material foram testadas por métodos aprovados pela FDA (United States Food and Drug Administration), não tendo sido detectada a presença de anticorpos contra o VIH e o VHC, nem reactividade para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HbsAg). Dado que nenhum método de teste pode oferecer total garantia de que os vírus HIV, da hepatite B e da hepatite C ou outros agentes infecciosos não estão presentes, este material e todas as amostras de doentes devem ser manuseados como potenciais transmissores de doenças infecciosas. Este produto pode também conter outros materiais de origem humana para os quais não existe teste aprovado. A FDA recomenda que tais amostras sejam manuseadas conforme especificado nas orientações do Nível 2 de Segurança Biológica dos Centros de Controlo de Doenças.²

INFORMAÇÃO SOBRE CALIBRAÇÃO DOS SISTEMAS DE IMUNOQUÍMICA IMAGE

1. A calibração do Sistemas de Imunoquímica IMAGE[®] depende de cada lote de reagentes específico.
2. O lote de reagentes AT3 deve ser recalibrado quando se muda os lotes de Solução tampão 1 ou Diluente 2 ou após as substituições de determinadas peças ou procedimentos de manutenção, conforme definido no IMAGE *Operations Manual* (Manual de Funcionamento IMAGE).
3. O Sistema de Imunoquímica IMAGE foi concebido para necessitar de um mínimo de calibração. As calibrações que permanecerem na memória do sistema deverão ser monitorizadas através do desempenho dos procedimentos de controlo de qualidade em cada dia de testes.
4. A calibração para AT3 é estável durante 14 dias.
5. O(s) sistema(s) irá/irão realizar automaticamente uma verificação durante a calibração e irá/irão produzir um relatório de calibração. O sistema irá alertar o operador quanto à ocorrência de uma falha na calibração. Na secção RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS de Sistemas de Imunoquímica IMAGE[®] *Operations Manual(s)* (Manual/Manuais de funcionamento Sistemas de Imunoquímica IMAGE[®]) está apresentada uma explicação de todas as mensagens de erro.

6. A informação sobre a verificação da calibração pode ser consultada na secção de VERIFICAÇÃO DA CALIBRAÇÃO do (Chemistry Reference Manual) *Manual de Referência Química* dos Sistemas de Imunoquímica IMMAGE®.

RASTREABILIDADE

Para obter informações sobre rastreabilidade, consulte as instruções de utilização do calibrador.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se que pelo menos, dois níveis de material de controlo, normal e anormal, sejam analisados diariamente. Consulte a secção CALIBRADORES E CONTROLOS do (Chemistry Reference Manual) *Manual de Referência Química* dos Sistemas de Imunoquímica IMMAGE®, para obter uma lista dos controlos da Beckman Coulter. Os controlos também devem ser analisados a cada nova calibração, com um novo lote de reagente ou tampão, e após manutenção específica ou resolução rápida de problemas como detalhado no *Manual de Operações* dos Sistemas de Imunoquímica IMMAGE®. A utilização mais frequente de controlos ou a utilização adicional de controlos é deixada à consideração do utilizador, baseando-se na carga e fluxo do trabalho.

Os controlos seguintes devem ser preparados e utilizados de acordo com os folhetos informativos. Os resultados de controlo de qualidade discrepantes deve ser avaliados nas vossas instalações.

Quadro 1.0 Material de controlo de qualidade

NOME DE CONTROLO	TIPO DE AMOSTRA	ARMAZENAMENTO

PROCEDIMENTO(S) DE TESTE

1. Após a configuração, carregue os reagentes no sistema de acordo com as instruções no IMMAGE *Operations Manual* (Manual de Funcionamento IMMAGE).
2. Seleccione as químicas que pretende calibrar, se for necessário. Carregue os calibradores, controlos e amostras com código de barras ou programe e carregue controlos e amostras sem código de barras que pretende analisar de acordo com as instruções no IMMAGE *Operations Manual* (Manual de Funcionamento IMMAGE).
3. Observe os protocolos relativamente ao funcionamento do sistema de acordo com as instruções no IMMAGE *Operations Manual* (Manual de Funcionamento IMMAGE).

CÁLCULOS

O Sistema de Imunoquímica IMMAGE irá calcular automaticamente os resultados.

COMUNICAÇÃO DE RESULTADOS

INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Os valores do intervalo de referência para AT3 foram estabelecidos utilizando o Sistema de Imunoquímica IMMAGE®, para uma população de 124 adultos do sexo masculino e feminino aparentemente saudáveis da Califórnia.

Quadro 2.0 Intervalos de referência^a

	TIPO DE AMOSTRA	INTERVALOS DE REFERÊNCIA
Beckman Coulter	EDTA	26,0 – 40,8 mg/dL
	CITRATO DE SÓDIO	22,5 – 33,3 mg/dL

a Cada laboratório deve estabelecer o(s) seu(s) próprio(s) intervalo(s) de referência, com base na respectiva população de doentes.

	TIPO DE AMOSTRA	INTERVALOS DE REFERÊNCIA
Laboratório		

Consulte as Referências (3,4,5,6) no final desta folha de informação química para linhas de orientação sobre o estabelecimento de intervalos de referência específicos do laboratório.

Informações adicionais sobre comunicação de dados designadas por este laboratório:

UNIDADES E FACTOR DE CONVERSÃO

Os resultados para o teste AT3 foram apresentados em unidades predefinidas de mg/dL. A conversão métrica na mesma categoria de unidades irá ocorrer automaticamente se uma unidade nova for seleccionada. Deverá ser introduzido um valor de conversão durante a selecção de uma categoria de unidades diferente da predefinida.

Para informações mais detalhadas sobre as unidades e factores de conversão, consulte a secção Configuração do Sistema do IMMAGE *Operations Manual* (Manual de Funcionamento IMMAGE).

NOTAS SOBRE PROCEDIMENTOS

INTERFERÊNCIAS

1. Testaram-se as seguintes substâncias no soro, para detectar interferências com esta metodologia na diluição inicial:

Quadro 3.0 Interferências

SUBSTÂNCIA	FONTE	NÍVEL TESTADO	EFEITO OBSERVADO
Bilirrubina	Porcina	5 – 30 mg/dL	Nenhum

Quadro 3.0 Interferências, Continuação

SUBSTÂNCIA	FONTE	NÍVEL TESTADO	EFEITO OBSERVADO
Lípido	Intralipid ^a	100 – 500 mg/dL	Nenhum ^b
Hemoglobina	Humano/a	100 – 500 mg/dL	Nenhum

a Intralipid é uma marca comercial registada da KabiVitrum, Inc., Clayton, NC 27250.

b A quantificação de proteínas específicas por nefelometria poderá não ser possível nas amostras lipémicas devido às propriedades extremas de dispersão de luz da amostra. As amostras lipémicas deverão ser delipidadas por ultracentrifugação (90 000 x g durante 10 minutos) antes de se iniciar a análise.

- É possível ocorrer uma interferência não específica entre as amostras menos diluídas e a solução tampão com reforço de polímeros quando se procede à análise de diluições offline inferiores a 1:6.
- A presença de partículas de pó ou de outras partículas (isto é, detritos e bactérias) na solução de reacção pode originar sinais de dispersão da luz não relacionados com o ensaio, introduzindo variabilidade na análise da amostra.
- A razão entre sangue e anticoagulante é importante. Um aumento ou decréscimo desta razão pode produzir resultados inexactos.

É possível detectar determinadas variantes de antitrombina III através da comparação do resultado da actividade reduzida com o resultado antigénio normal.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

INTERVALO ANALÍTICO

O teste AT3 tem como objectivo detectar as concentrações deste analito utilizando uma diluição inicial da amostra de plasma de 1:6.

Quadro 4.0 Intervalo analítico

TIPO DE AMOSTRA	INTERVALO ANALÍTICO DA BECKMAN COULTER
Plasma	Inicial: 5 – 50 mg/dL Alargado/a: 5 – 300 mg/dL

INTERVALO REPORTÁVEL (CONFORME DETERMINADO NO LOCAL):

Quadro 5.0 Intervalo reportável

TIPO DE AMOSTRA	INTERVALO REPORTÁVEL DO LABORATÓRIO

Consulte a secção do (Chemistry Reference Manual) *Manual de Referência Química* dos Sistemas de Imunoquímica IMAGE®, VERIFICAÇÃO DA CALIBRAÇÃO, para obter mais detalhes acerca do intervalo laboratorial notificável.

SENSIBILIDADE

A sensibilidade é definida como a menor concentração mensurável que pode ser distinguida de zero com 95% de confiança. A sensibilidade da determinação de AT3 é de 5,0 mg/dL.

EQUIVALÊNCIA

A equivalência foi avaliada através da análise de regressão de Deming de amostras relativamente a um método clínico aceite. Os valores obtidos para AT3 utilizando o teste AT3 IMAGE foram comparados aos valores obtidos utilizando um Sistema Array® 360. Na análise foram incluídas as amostras normais e anormais.

Quadro 6.0 Valores equivalentes

	SISTEMA ARRAY 360
N	136
Declive	1,088
Intercepção	- 0,10 mg/dL
Média (IMMAGE)	26,8 mg/dL
Média (Array 360)	24,7 mg/dL
Coefficiente de correlação (r)	0,996

Os valores de equivalência foram determinados utilizando amostras de doentes com concentrações de 5,74 a 49,4 mg/dL. Para obter informações sobre a realização dos testes de equivalência, consulte a bibliografia (7,8) no final desta ficha de informação química.

PRECISÃO

Um Sistema de Imunoquímica IMMAGE® a funcionar correctamente deve exibir valores de imprecisão inferiores ou iguais aos limites máximos de desempenho abaixo indicados. Os limites máximos de desempenho foram obtidos através da análise da precisão de vários métodos, de resumos de testes de proficiência e de fontes bibliográficas.

Quadro 7.0 Limites máximos de desempenho

TIPO DE PRECISÃO	TIPO DE AMOSTRA	SD (mg/dL)	CV (%)	VALOR DE CHANGEOVER (mg/dL) ^a
Intra-ensaio	Plasma	1,2	4,0	30,0
Total	Plasma	1,2	6,0	20,0

a Quando a média dos dados sobre a precisão do teste for inferior ou igual ao valor de changeover, compare o desvio-padrão do teste (DP) com o desvio-padrão (DP) de referência acima indicado, para determinar a aceitabilidade do teste da precisão. Quando a média dos dados sobre a precisão do teste for superior ao valor de changeover, compare o coeficiente de variação (% CV) do teste com o valor de referência acima indicado, para determinar a aceitabilidade do teste. Valor de changeover = (DP de referência/CV de referência) x 100.

O quadro abaixo apresenta dados comparativos sobre o desempenho do Sistema de Imunoquímica IMMAGE®, avaliado segundo as Orientações EP5-T2 propostas pelo NCCLS.⁹ Cada laboratório deve caracterizar o desempenho do seu próprio instrumento, para fins comparativos.

Quadro 8.0 Valores de imprecisão típicos

TIPO DE PRECISÃO	AMOSTRA	Pontos correspondentes a dados ^a	Valor médio do teste (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV (%)
Intra-ensaio	Plasma Nível 1	80	5,75	0,176	3,1
	Plasma Nível 2	80	29,8	0,58	2,0
	Plasma Nível 3	80	43,4	0,88	2,0
Total	Plasma Nível 1	80	5,75	0,202	3,5
	Plasma Nível 2	80	29,8	0,68	2,3
	Plasma Nível 3	80	43,4	0,96	2,2

a Os pontos estimados baseiam-se nos dados obtidos a partir de 1 sistema utilizado durante 20 dias, com 2 ensaios por dia e 2 observações por ensaio, num instrumento utilizado e mantido de acordo com as instruções do fabricante.

Consulte a bibliografia (7,9), para obter informações sobre a realização dos testes da precisão.

AVISO

Os graus de precisão indicados foram obtidos em procedimentos de teste normais e não representam especificações de desempenho para este procedimento de teste.

INFORMAÇÃO ADICIONAL

Para mais informações, consulte o IMMAGE Immunochemistry Systems *Operations Manual* (Manual de Funcionamento do Sistema de Imunoquímica IMMAGE).

DANOS DE TRANSPORTE

Se o produto entregue estiver danificado, informe o seu Centro de Apoio Clínico Beckman Coulter.

BIBLIOGRAFIA

1. Tietz, N. W., "Specimen Collection and Processing; Sources of Biological Variation", *Textbook of Clinical Chemistry*, pp 478 518, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1986).
2. CDC-NIH manual, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. (1984).
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens*, Approved Guideline, NCCLS publication H18-A, Villanova, PA (1990).
4. Tietz, N. W., *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 2nd Edition, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1990).
5. Henry, J. B., ed., *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 17th Edition (1984).
6. Statland, Bernard E., "Clinical Decision Levels for Lab Tests", *Medical Economic Book*, Oradel, New Jersey (1983).
7. Tietz, N. W., ed., *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 3rd Edition, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1987).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples*, Tentative Guideline, NCCLS publication EP9-T, Villanova, PA (1993).
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Precision Performance of Clinical Chemistry Devices*, Tentative Guideline, 2nd Edition, NCCLS publication EP5-T2, Villanova, PA (1992).



Beckman Coulter Ireland Inc., Mervue Business Park, Mervue, Galway, Ireland (353 91 774068)



Beckman Coulter, Inc., 4300 N. Harbor Blvd., Fullerton, CA 92835

Beckman Coulter do Brasil Com e Imp de Prod de Lab Ltda, Estr dos Romeiros, 220 - Galpao G3 - Km 38.5, zip code 06501-001 - Sao Paulo - SP - Brasil, CNPJ: 42.160.812/0001-44