

R.S.R.
Limited

AUTOANTICORPOS TIREOGLOBULINA (ANTI-TG)

ENSAIO DIRETO PARA AUTO-ANTICORPOS TIREOGLOBULINA

Revisão: 04/05/2007

PRINCÍPIO DO ENSAIO

A destruição auto-imune da tiróide está associada à formação de auto-anticorpos contra a principal proteína da tiróide, a tireoglobulina (Tg), e contra a enzima tireóide peroxidase (TPO). Dosagens de auto-anticorpos contra Tg e TPO são consideradas de grande valor no diagnóstico de doenças tireóideas auto-imunes. O ensaio direto RSR para auto-anticorpo Tg (TgAb) está baseado em preparações de I^{125} de Tg altamente purificadas e estáveis.

No ensaio, o soro diluído é incubado com Tg marcado [I-125] e forma complexos marcados antígeno-anticorpo. Os complexos são então precipitados pela adição de proteína A em fase sólida e centrifugados. Após, centrifugação, os precipitados são contados e quantidade de radioatividade será proporcional a concentração de auto-anticorpo Tg na amostra testada.

Reagentes fornecidos para kits de 50,100 e 500 tubos

	50 TUBOS	100 TUBOS	500 TUBOS
Nº dos frascos de tracer e atividade	1 x ~40 kBq	2 x ~40 kBq	5 x ~100 kBq
Volume de reconstituição do tracer	2.6 mL	2.6 mL	5 mL
Padrões (0,0.3,1,3,10,30,100 u/mL)	1 x 1 mL	1 x 1 mL	2 x 1 mL
Diluinte de Ensaio	1 x 110 mL	2 x 110 mL	2 x 500 mL
Proteína A	1 x 2.6 mL	2 x 2.6 mL	5 x 5 mL

Materiais necessários, mas não fornecidos com o kit

1. Pipetas para 50 µL, 1 mL, 2.6 mL e 5 mL.
2. Tubos plásticos (3 mL).
3. Misturador Vórtex.
4. Centrífuga com capacidade de 1500 g preferencialmente refrigerada.
5. Contador para [I-125].

PROCEDIMENTO PADRÃO DE ENSAIO

(Amostras inferiores a 0,3 unidades por mL são negativas)

Neste procedimento, o soro diluído e o antígeno marcado são pré-incubados pela adição da proteína A em fase sólida.

1. Permitir que os reagentes alcancem a temperatura ambiente.
2. Reconstituir a Tireoglobulina (Tg) liofilizada marcada [I-125] com o diluinte de ensaio (consulte a tabela para volumes de reconstituição). Após a reconstituição, o frasco de Tg marcado [I-125] pode ser armazenado entre 2-8°C.
3. Reconstituir a proteína A liofilizada com o diluinte de ensaio (consulte a tabela; utilizar uma pipeta) imediatamente antes do uso. Homogeneizar em vórtex durante 10 segundos e verificar se a suspensão está homogênea. Após a reconstituição, a suspensão pode ser armazenada entre 2-8°C (ou por 6 meses a -20°C). Ocorre precipitação no armazenamento e o frasco deve ser homogeneizado suavemente por inversão durante 20 segundos imediatamente antes do uso. **Não** é necessário homogeneizar o frasco ao retirar aliquotas durante o ensaio. Devem ser evitados repetidos congelamentos e descongelamentos.
4. Diluir todas as amostras de soro **1:20** com o diluinte de ensaio (por exemplo, 50 µL de soro para 1 mL do diluinte). Não diluir os padrões (já estão diluídos, prontos para uso).
5. Adicionar os padrões (**50 µL em duplicata**) ou soro diluído (**50 µL em duplicata**) aos tubos plásticos de 3 mL, seguido por **50 µL** de Tg marcada com [I-125].
6. Adicionar **50 µL** de traçador em 2 tubos vazios para a contagem total.
7. Agitar em vórtex ou homogeneizar agitando os tubos por alguns segundos; incubar durante **1 hora** a temperatura ambiente.
8. Homogeneizar a suspensão de proteína A por inversão durante 20 segundos e adicionar **50 µL** da suspensão homogênea em cada tubo (exceto os totais).

9. Incubar durante **1 hora** a temperatura ambiente.

10. Adicionar **1 mL** do diluinte; homogeneizar brevemente em vórtex e centrifugar a 1500 g durante **30 minutos** a **4°C**.

11. Aspirar ou decantar os sobrenadantes e contar os precipitados juntamente com os tubos contendo a contagem total durante 1 minuto.

Cálculo dos resultados

A média da radioatividade (cpm) de cada série de tubos em duplicata é utilizada diretamente, ou como uma porcentagem da radioatividade total originalmente adicionada. Uma curva padrão é construída utilizando a concentração de anticorpo na **ordenada** e a média de cpm ou porcentagem de traçador ligado na **abscissa**. As concentrações de anticorpos no soro do teste são lidas na curva. 1 unidade por mL de TgAb nos padrões do kit é equivalente a 10 unidades por mL da preparação de referência NIBSC 65/093.

Interpretação de resultados de ensaios diretos para os anticorpos Tireoglobulina (Tg)

Resultados de estudos conduzidos com o ensaio direto em soros de grupos diferentes de pacientes sugeriram que valores maiores que 0.3 unidades por mL podem ser considerados positivos para auto-anticorpo Tg. Embora níveis baixos de auto-anticorpos indiquem que o processo de auto-imunidade de tiróide está ocorrendo, isto não é necessariamente associado a anormalidades da função da tiróide.

Resultados de Ensaio TgAb em doadores de sangue saudáveis:

O ensaio sérico de 50 indivíduos saudáveis obtidos por fonte comercial forneceram uma média \pm DP de 0.288 ± 1.42 unidades por mL. 49 dos 50 indivíduos forneceram valores menores que 0.3 u/mL. Apenas 1 amostra forneceu valores de 10.1 u/mL.

Resultados de Ensaios TgAb em grupos de pacientes com doença de Hashimoto e Graves:

Anticorpos Tg foram detectados em 44/50 (88%) das amostras de pacientes diagnosticados com Hashimoto ou Graves.

Especificidade do Ensaio:

A alta pureza do tracer Tg assegura que o ensaio somente detecte anticorpos Tg. Não existe reatividade cruzada detectável com auto-anticorpos para TPO, receptor de TSH, GAD, IA-2, 21-OH, dsDNA ou AChR.

Variações do Protocolo de Ensaio Padrão:

Aumento da sensibilidade pode ser adquirido realizando-se as incubações do procedimento padrão de ensaio a 37°C.

Sistema Rápido de Ensaio:

O tempo do ensaio pode ser diminuído adicionando-se simultaneamente o soro diluído, tracer e suspensão de proteína A. Incuba-se então por 30 minutos a temperatura ambiente seguindo-se com a etapa de adição do diluinte e centrifugação. Este procedimento pode ser utilizado como um ensaio rápido de screening e possui sensibilidade de 3 unidades por mL.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Cada laboratório deve estabelecer seus próprios intervalos de referência para auto-anticorpos Tg, tanto para pacientes normais quanto patológicos.
- Os dados contidos nestas instruções devem ser usados apenas como um guia.
- Recomenda-se que cada laboratório inclua seu próprio painel de amostras controles juntamente com os controles fornecidos no kit.
- Este kit é destinado ao uso in vitro por profissionais habilitados.
- Siga todas as instruções cuidadosamente.
- Armazene todos os reagentes de 2-8°C nas embalagens originais.
- Verifique as datas de validade impressas nas etiquetas assim como as estabilidades específicas para cada reagente reconstituído.

CUIDADO: MATERIAL RADIOATIVO

Consulte as regulamentações de radiação, padrões, e procedimentos aplicáveis para a sua facilidade em manusear, armazenar, e descartar materiais radioativos. Este material radioativo deve ser recebido, adquirido, e usado somente por médicos, laboratórios clínicos ou hospitais e somente deve ser usado para testes de laboratório ou clínicos *in vitro* que não envolvam administração interna ou externa do material, ou da radiação dele resultante, para seres humanos e animais. O seu recebimento, aquisição, uso e transferência estão sujeitos a regulamentações de cada país. Para minimizar os riscos de exposição à radiação, manuseie materiais radioativos como recomendado pela regulamentação padrão apropriada e no "Occupational Radiation Protection Safety Guide, Safety Standards Series N^o RS-G-1.1," 1999, publicado pela "International Atomic Energy Agency".

As seguintes Boas Práticas de Laboratório universais devem ser observadas:

- Não comer, beber, fumar ou aplicar cosméticos na área onde os materiais radioativos estiverem sendo manipulados.
- Não pipetar com a boca.
- Usar aventais e luvas descartáveis quando manipular materiais imunodiagnósticos.
- Lavar muito bem as mãos após manipular materiais imunodiagnósticos.
- Cobrir a superfície de trabalho com papel absorvente descartável.
- Limpar todos os respingos muito bem e imediatamente e descontaminar a superfície afetada.
- Evite a geração de aerossol.
- Providencie ventilação adequada.
- Manuseie e descarte os reagentes e materiais de acordo com a regulamentação aplicável.

AVISO: Material Potencialmente Nocivo à Saúde

Este kit contém alguns reagentes fabricados com material de fonte humana (ex. soro ou plasma) ou usados em conjunto com materiais de fonte humana. O material neste kit foi testado por métodos recomendados pela FDA e não se apresentaram reativos para anticorpo HIV-1/2, HCV e HBsAg. Nenhum método pode oferecer completa garantia de eliminação de riscos potenciais à saúde. Estes reagentes devem ser manipulados no Nível de Biosegurança 2, conforme recomendado para qualquer amostra de sangue ou soro potencialmente infecciosa no manual do CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Biosegurança em Laboratórios Microbiológicos e Biomédicos), 4ª Edição, Abril 1999.

CUIDADO: Perigo Químico:

Alguns dos reagentes neste kit contém azida sódica como conservante em concentrações abaixo do limite permitido de <0.1%. Mesmo significativamente diluída azida sódica concentrada é um irritante para a pele e membranas mucosas e pode reagir com o cobre e chumbo das tubulações e formar azidas metálicas explosivas, especialmente se acumulada. Esta substância está sob a forma diluída, e por isto, pode minimizar os riscos de exposição significativamente, mas não completamente. Evite contato com a pele, olhos, e roupas. Em caso de contato com qualquer um destes reagentes, lave a área completamente com água e procure orientação médica. Descarte todo material não radioativo e os reagentes sem risco de contaminação deixando correr uma grande quantidade de água a fim de prevenir a formação de produtos químicos perigosos no sistema de tubulação.

Para maiores informações a respeito de substâncias de risco pertencentes a este kit, por favor, consulte os componentes específicos nas FISPQs no site www.gendiaq.com.br ou solicite a informação.

Revisão-assessoria: 02/07/2007

Biom. Resp.: Dra. Adriana Beatriz C. Almeida – CRBM: 3828
Reg. MS: 10337680095

CONSERVAR ENTRE +2 E +8 °C

Importado e distribuído por:
Genese Produtos Diagnósticos Ltda.
Rua Diogo Vaz, 291 Cambuci
CEP. 01527-020 - São Paulo - SP

Fabricado por:

RSR Limited
Avenue Park
Pentwyn - Cardiff CF2 7HE
Wales - REINO UNIDO

Atendimento ao consumidor - Fone (011) 3341-6987