



TURB IgG - Imunoglobulina G IGG

Finalidade:

Reagente utilizado na determinação quantitativa de Imunoglobulina G (IgG) no soro ou plasma humanos por imunoturbidimetria. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

A turbidimetria baseia-se na detecção ótica de partículas muito pequenas suspensas em líquido. Quando o anticorpo específico para a Imunoglobulina G reage com o IgG presente na amostra (antígeno) formam-se os imunocomplexos insolúveis que induzem uma turbidez, medida por espectrofotometria a 340 nm ou excepcionalmente a 600nm. Essa turbidez é diretamente proporcional à concentração da Imunoglobulina G na amostra.

Metodologia:

Imunoturbidimetria

Significado Clínico:

A IgG é a principal imunoglobulina do sangue, respondendo por cerca de 70 a 75% do total de imunoglobulinas. É monomérica e é o principal anticorpo nas respostas imunes secundárias, quando são produzidas em grande quantidade. É a única que atravessa a barreira placentária e confere um grande grau de imunidade passiva ao recém-nascido.

A região FC realiza ativação de complemento (quando unida ao antígeno) e auxilia a fagocitose por se ligar a macrófagos. Com a ativação do complemento, há geração de quimiotaxia de neutrófilos, aumento da permeabilidade vascular e amplificação da resposta inflamatória.

Reagentes:

Reagente 1- Diluente: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Tampão Tricine pH 8, PEG, cloreto de sódio, azida de sódio (<1g/l)

Reagente 2 - Anticorpo: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Anticorpo IgG Anti humano (título ± 5 mg/ml) em pH 7.4 Tampão de HEPES, estabilizadores e azida de sódio (<1g/l)

Os reagentes estão prontos para uso e quando não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para uso diagnóstico "in vitro".

Os produtos de origem humana foram testados e estão livres de HBsAg e anticorpos para HCV e HIV, porém este material deve ser tratado cuidadosamente como potencialmente infeccioso.

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante. Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.

Não usar se o reagente apresentar turbidez, presença de precipitado e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C.
2. Espectrofotômetro ou fotômetro capaz de medir absorbância em 340 nm ou 600nm.
3. Pipetas de vidro e/ou automáticas.
4. Calibrador e controles Ebram.
5. Medidor de tempo.
6. Tubo de ensaio

Amostra:

É recomendado soro livre de hemólise ou plasma (EDTA). A Imunoglobulina G é estável no soro por 48 horas se for refrigerado entre 2 - 8°C. Para período mais prolongado, congelar a amostra (-20°C) por no máximo 3 meses (congelar somente uma vez). Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

Não é necessário jejum. Todavia, poderá ser modificado

segundo orientação médica

Interferências:

Triglicérides até 2500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, hemoglobina até 1000 mg/L, citrato de sódio até 1000 mg/dL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da Imunoglobulina G, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 340 nm ou 600nm.
Tipo de Reação: Ponto final
Direção: Crescente
Pré-diluição da amostra: 1:5
Vol. Amostra diluída: 15µL
Vol. do Diluente : 250µL
Vol. do Anticorpo: 50µL
Tempo de Incubação: 10min

Calibração:

Utilizar o calibrador Turbcalib - Calibrador Turbidimétrico Ebram - Cód. 1042. A concentração da Imunoglobulina G no calibrador é rastreável ao material de referência CRM470 (Preparação de referência para proteínas séricas humanas, certificada em conjunto pelo Colégio Americano de Patologistas, Communal office of Reference e Federação Internacional de Química Clínica (IFCC)

Procedimento Automatizado:

Vide manual para utilização do equipamento, protocolo específico e instruções de uso do reagente.

Para analisadores onde não seja possível o preparo automático da curva de calibração, deve-se seguir orientação do preparo dos pontos de calibração descrito, em Preparo da Curva de Calibração para Analisadores Automáticos, no verso dessa instrução de uso.

Procedimento Manual:

Pré-diluir as amostras e os controles, em fisiológica, na razão 1:5 (100µl de amostra + 400µl de solução fisiológica).

PREPARO DOS PONTOS DE CALIBRAÇÃO

Identificar 6 tubos de ensaios (1 a 6).
Adicionar ao tubo 1, 400µl de solução fisiológica + 100µl de calibrador. Homogeneizar.
Adicionar aos tubos 2 a 6, 250µl de solução fisiológica.
Transferir 250µl do conteúdo do tubo 1 para o tubo 2. Homogeneizar.
Transferir 250µl do conteúdo do tubo 2 para o tubo 3. Homogeneizar.
Transferir 250µl do conteúdo do tubo 3 para o tubo 4. Homogeneizar.
Transferir 250µl do conteúdo do tubo 4 para o tubo 5. Homogeneizar.

	Tubo1	Tubo2	Tubo3	Tubo4	Tubo5	Tubo6
Fator de diluição	1.0	0.5	0.25	0.125	0.063	0

Obs: a concentração de cada ponto é obtida multiplicando-se a concentração do calibrador pelo fator de diluição

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Separar tubos de ensaio para cada ponto de calibração, branco, amostra / soro controle e realizar os procedimentos conforme tabela abaixo:

	Branco	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	15µL	-	-
Pontos de Calibração	-	15µL	-
Amostra/S.C. dil 1:5	-	-	15µL
Reagente R1	250µL	250µL	250µL
Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A1) à 600nm zerando o aparelho com água destilada.			
Reagente R2	50µL	50µL	50µL
Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A2) à 600nm zerando o aparelho com água destilada.			

Cálculos:

Abs. = Absorbância

1. A Abs final dos pontos de calibração = (A2 - A1) dos pontos de calibração - (A2 - A1) branco do reagente

2. Confecção da Curva de calibração
-Em um papel milimetrado plotar as absorbâncias finais, dos pontos de calibração no eixo das ordenadas. (eixo y)
-Plotar as concentrações de cada ponto de calibração, na ordem crescente, no eixo das abscissas. (eixo x)

3. A Abs final de amostra = (A2 - A1) amostra - (A2 - A1) branco do reagente
-Interpolar as absorbâncias finais de cada amostra / soro controle, na curva de calibração para determinar a respectiva concentração.

Exemplo:

1. Abs.Final do ponto de calib. = (A2 - A1)calib - (A2 - A1)branco
Abs.Final do ponto de calib. = (0,425 - 0,052) - (0,120 - 0,047)
Abs.Final do ponto de calib. = 0,300
obs: realizar esse cálculo para todos os pontos da curva de calibração.

2. Abs.Final de amostra = (A2 - A1) amostra - (A2 - A1)branco
Abs.Final de amostra = (0,582 - 0,049) - (0,104 - 0,040)
Abs.Final de amostra = 0,469

Utilizar a curva de calibração no papel milimetrado para obter as concentrações das amostras.

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 5000mg/dL. Valores superiores, diluir a amostra com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado pela fator de diluição. A linearidade pode variar consideravelmente dependendo do instrumento utilizado. O limite da linearidade depende da relação de amostra/reagente. Aumenta reduzindo o volume da amostra, enquanto que a sensibilidade do ensaio diminuirá proporcionalmente.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição seguindo as Boas Práticas de Laboratório Clínico. Aconselhamos o uso do Turbcontrol - Controle Turbidimétrico Ebram - cód.1043.

Valores Esperados:

Adultos: 565 e 1765 mg/dL.
Crianças: 200 e 1240 mg/dL.
Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

A comparação com Nefelometria nos proporcionou os seguintes resultados: y = 0.9878x - 0.2018; r = 0.9836

Precisão:

* Intra - Precisão analisada
3 amostras de soro foram consecutivamente dosadas 20 vezes no Cobas Mira.

Valores Esperados	n	Média	S.D.	C.V.
Baixo	20	454	11.36	2.50
Médio	20	966	31.39	3.25
Alto	20	1776	74.22	4.18

* Inter-Precisão de exame
2 soros controle foram dosados diariamente no Cobas Mira depois da calibração.

Valores Esperados	n	Média	S.D.	C.V.
Ortho1	68	789.7	14.46	1.83
Ortho2	64	333.4	13.60	4.08

Exatidão:

Os controles são analisados em duplicidade no Cobas Mira.
Controle Valores analisados Valores das Medidas (mg/dl)
Ebram 1272 (1081 - 1462) 1360
Liquiheck 1 2695 (2156 - 3234) 2732
Liquiheck 2 590 (502 - 678) 589
Serorm L 1260 (1071 - 1449) 1298
Serorm N 1830 (1555 - 2105) 1651
Serorm H 441 (375 - 507) 513

Sensibilidade Metodológica:

12,5 mg/dL

Especificidade:

Nos estudos comparativos realizados apresentamos dados determinados em um analisador. A comparação com soros controles já validados mostrou uma especificidade analítica adequada.

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥1 mega ohm ou condutividade ≤1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Automação: R1= 1 x 25mL + R2= 1 x 3mL - Cód.1036
Linha Hitch-Line: R1= 1 x 90mL + R2= 1 x 12mL - Cód. 10036

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com.

Referência Bibliográfica:

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, (1994).
2. Roitt, I., Essential Immunology, Blackwell, Oxford, (1991).
3. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Testes, Third Edition, AACC Press 1990.
4. Watchel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals, Laboratory Medicine, 1996; 26:593-7.
5. Arquivos da Ebram.

