Metotrexato (MTX) - SNIBE

MÉTODO
Ensaio imunoenzimático homogêneo

FINALIDADE DE USO
Reagentes para a determinação quantitativa da Metotrexato (MTX) no soro. Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

FUNDAMENTO
Em um sistema de reação homogêneo líquido, o metotrexato (MTX) e o conjugado glicose hexafosfato desidrogenase-metotrexato na amostra competem simultaneamente pela ligação ao sítio do anticorpo anti-metotrexato. Isso ocorre porque o anticorpo se liga ao conjugado. A atividade enzimática diminui com a maior quantidade de metotrexato livre na amostra, o que resulta em maior competição entre os sítios de ligação do anticorpo e menor ligação do conjugado enzima-complexo. Sem o anticorpo, o conjugado enzima-complexo catalisa a conversão do NAD^+ em NADH. A concentração de metotrexato na amostra é proporcional à quantidade de NADH produzida, que pode ser determinada pela variação da absorbância.

SIGNIFICADO CLÍNICO
O metotrexato (MTX) é um medicamento antitumoral, que inibe principalmente a síntese de células tumorais por inibir a diidrofolato redutase e retarda o crescimento e reprodução das células tumorais. É usado principalmente para o tratamento de carcinoma corioepitelial, mola hidatiforme maligna, várias leucemias agudas, câncer de mama, câncer de pulmão, câncer de cabeça e pescoço, câncer gastrointestinal, câncer cervical e linfoma maligno, etc. A perfusão com cânula arterial também é eficaz para câncer de cabeça e pescoço e câncer de fígado. Altas doses de MTX têm um efeito significativo em uma variedade de tumores malignos, como linfoma não Hodgkin, leucemia linfoblástica aguda, osteossarcoma, malignidades de cabeça e pescoço, etc., doses maiores do medicamento podem aumentar a concentração sanguínea do medicamento, o transporte de MTX para as células, superar a resistência ao medicamento, e aumentar o efeito curativo. O metotrexato é um medicamento que exige prescrição médica. Doses elevadas podem causar osteoporose, dor nas articulações, irritação ocular e diabetes. Também pode causar deficiência de oócitos, redução de espermatozoides e diminuição da fertilidade. Assim como outros antagonistas do ácido fólico, o metotrexato tem efeitos teratogênicos e pode causar natimortos. Portanto, é particularmente importante realizar testes de concentração do medicamento e determinar a medicação do paciente com base nos resultados dos testes.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 – 8°C.

RGT1 – Reagente 1: Ácido 4-hidroxietilpiperazina etanosulfônico 100mmol/L e Conjugado de glicose hexafosfato desidrogenase-metotrexato 0,01 - 1%.

RGT2 – Reagente 2: Ácido 3-[N-Tris(hidroximetil)metilamina]-2-hidroxipropanossulfônico 100 mmom/L, Hexafosfato de glicose 20 mmol/L, NAD^+ 20 mmol/L e Anticorpo policlonal contra metotrexato 0,01 -0,5%.

CAL[1-6] – Calibrador MTX: Solução contendo Metotrexato. A concentração de MTX está indicada no rótulo do frasco.

CTR[1-3] – Controle MTX: Solução contendo Metotrexato. A concentração de MTX está indicada no rótulo do frasco.

ESTABILIDADE
Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa, quando conservados bem vedados, na temperatura recomendada, protegidos da luz. Não congelar.
Evite a contaminação durante o uso.
Após aberto, os reagentes são estáveis por 28 dias.

TRANSPORTE
O transporte pode ser realizado à temperatura ambiente (15 – 30°C) por até 5 dias.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA
O fabricante garante a qualidade do produto se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES
- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, os reagentes e amostras devem ser manuseado como material **potencialmente infectante**.
- Não ingerir ou aspirar os reagentes. Os reagentes contém conservantes, portanto em caso de contato com os olhos, boca ou pele, enxágue imediatamente com água limpa em abundância e procure atendimento médico, se necessário.
- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- A água utilizada no enxague de materiais deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. O crescimento bacteriano pode levar a resultados incorretos.
- Os reagentes abertos devem ser selados e armazenados de acordo com o método especificado. Produtos vencidos não devem ser utilizados.
- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Recomendamos o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como avental, óculos de segurança, luvas descartáveis e outros que se fizerem necessários para a realização do teste.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte.
Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

AMOSTRA
Soro. Estável por 7 dias a 2-8ºC e 90 dias a -20°C.

PROCEDIMENTO DO TESTE
Os reagentes estão prontos para uso.
O kit é indicado para uso em analisadores automático de bioquímica.
A programação deve ser solicitada para o Departamento de Serviços Associados. Adaptação especial pode ser fornecida quando solicitada.

VALORES DE REFERÊNCIA
Após infusão intravenosa na dose de 50 mg/m^2 - 15 g/m^2, a concentração plasmática de MTX deve ser:

< 10 µmol/L	Em 24 horas
< 1,0 µmol/L	Em 48 horas
< 0,1 µmol/L	Em 72 horas

Este valor deve ser usado como uma orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência para refletir a idade, o sexo, a dieta e a localização geográfica da população.
Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do auxílio diagnóstico, monitoramento e/ou tratamento do paciente.

CONTROLE DE QUALIDADE
É recomendado usar os controles para verificar o desempenho do ensaio. Cada Laboratório tem que estabelecer seu próprio esquema de controle de qualidade interno e procedimentos para ação corretiva se os controles não se recuperarem dentro da tolerância aceitável.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
Os resultados obtidos usando este reagente (y) foram comparados com aqueles obtidos usando um reagente comercial (x) com características semelhantes. Foram analisadas 31 amostras de diferentes concentrações de MTX. O coeficiente de correlação (R2) foi 0,9942 e a equação de regressão foi y = 1,057x + 0,0113. Os resultados das características de desempenho dependem do analisador usado.

Precisão
No ensaio de repetibilidade foram dosadas 20 vezes três controles e três amostras com concentração distintas. No ensaio de reprodutibilidade foram dosadas em duplicata três controles e três amostras com concentração distintas por 20 dias consecutivos, em dois períodos diferentes. Todos os resultados apresentaram coeficiente de variação abaixo de 5%.

Recuperação
Para o ensaio de recuperação um determinado volume de material puro de alta concentração foi adicionado à amostra clínica para determinação, e a taxa de recuperação ficou entre 90% e 110%.

Sensibilidade Analítica
Quando a concentração da amostra for de 0,50 µmol/L, a variação da absorbância deverá ser ≥ 0,0300.

Linearidade
Na faixa de 0,05 - 2,00 µmol/L, o coeficiente de correlação linear r ≥ 0,990.
Na faixa de 0,05 - 0,50 µmol/L, o desvio absoluto deve ser ≤ ±0,05 µmol/L.
Na faixa de 0,50 - 2,00 µmol/L, o desvio relativo deve ser ≤ ±10%.

Interferentes
O efeito de bilirrubina ≤ 50 mg/L, hemoglobina ≤ 1000 mg/L e HSA ≤ 100 g/L, é inferior a 10%.

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat. Nº	Reagente	Volume
847-1	RGT1	1 x 18 mL
	RGT2	1 x 6 mL
	CAL	6 x 1 mL
	CTR	3 x 1 mL

BIBLIOGRAFIA

1- Tang Jingjing, Wang Shuowen, Zhu Beilin, etc. Study on the correlation between the plasma concentration of methotrexate and its metabolites and adverse reactions in patients with osteosarcoma treated with high-dose methotrexate [J]. Zhongnan Pharmacy, 2019, 17(03) 450-454.
2- Chen Lu, Tu Suiping, Zhang Lijuan, etc. The application of EMIT method to monitor the plasma concentration of methotrexate in children with malignant tumors and acute lymphoblastic leukemia [J]. Journal of Clinical Rational Use of Drugs, 2017(11).
3- Mou Fangxiang, Wang Heng, Wu Hong et al. Biotin-avidin coupled amplified competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of methotrexate[J]. Journal of the Third Military Medical University, 2015(10): 1044-1046.
4- Ye Ruixian, Liu Huanyan, Xiong Qiying, etc. The application of methotrexate in dermatology [J]. China Journal of Leprosy and Skin Diseases, 2020 (06).
5- Qian Xin, Li Longkuan, Wang Qingchen, etc. Research progress of high-dose methotrexate-calcium folinate rescue regimen in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2016(36):1613-1618.

REV. 08/26

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
ANVISA: 10303460618 Classe de risco: III

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

	Data limite de utilização
	Limite de temperatura (conservar a 2-8°C)
REF	Número do Catálogo
	Consultar Instrução de Uso
LOT	Número do lote
IVD	Produto Diagnóstico *in vitro*
	Data de Fabricação
	Risco Biológico

REV. 08/26