

Método

Turbidimetria.

Finalidade

Reagentes para a determinação quantitativa do Fator Reumatóide (FR) no soro por turbidimetria.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

Princípio

O Fator Reumatóide (FR) sérico provoca uma aglutinação das partículas de látex cobertas com gamaglobulina humana. A aglutinação das partículas de látex é proporcional à concentração de FR e pode ser quantificada por turbidimetria.

Significado Clínico

O fator reumatóide (FR) é um grupo de anticorpos tipo IgM (ainda que se tenha descrito a presença de IgG e IgA) que reage contra o fragmento Fc das moléculas IgG. O FR aparece principalmente no soro de pacientes com artrite reumatóide, mas também em outras enfermidades do sistema auto imunológico, inflamações crônicas, hipergamaglobulinemia e fases agudas de doenças virais, bacterianas ou parasitárias.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um único teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

Reagentes

Reagente nº 1 – Tampão: Contém tampão Tris 20 mmol/L, pH 8,2 e azida sódica 14,6 mmol/L.

Reagente nº 2 – Látex: Contém suspensão de partículas de látex sensibilizadas com gamaglobulina humana e azida sódica 14,6 mmol/L.

Reagente nº 3 – Calibrador: Contém soro humano liofilizado. O valor de concentração do calibrador é rastreável ao Material de Referência da OMS W1066 (International Laboratory for Biological Standards, Amsterdam).

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem externa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evitado a contaminação durante o uso. A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. Os produtos não deverão exceder as temperaturas entre 2 e 30°C por até 120 horas (5 dias) para fins de transporte. **Não congelar.**

Cuidados Especiais e Precauções

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Tampão (1) e o Látex (2) contém azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não utilizar os reagentes com presença de partículas, turvação, absorbância do branco superior a 1,400 a 650 nm.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analisador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiros, estantes;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro;
- Banho-maria.

Amostra

Soro. O FR no soro é estável 7 dias a 2 - 8°C, quando livres de contaminação. Para descarte dos reagentes e materiais biológicos deve-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

A lipemia (triglicerídeos 10 g/L), a hemólise (hemoglobina 10 g/L) e a bilirrubina (20 mg/dL) não interferem. Outros medicamentos e substâncias podem interferir.

Preparação dos Reagentes

Reconstituir o Calibrador com 2 mL de água destilada ou deionizada.

Estável por um mês entre 2 - 8°C.

Reagentes prontos para uso.

Procedimento Técnico

Equipamentos Automáticos

Para determinação em equipamento automático, verificar no site www.bioanalitica.com.br

1. Pré-aquecer os Reagentes e o equipamento a 37°C.
2. Ajustar o espectrofotômetro a zero contra a água destilada.
3. Pipetar nas cubetas ou tubos de ensaio:

Tampão (1)	800 µL
Água (Branco), Calibrador ou Amostra	10 µL
Látex	200 µL

4. Misturar e inserir a cubeta no equipamento. Acionar o cronômetro.
5. Ler a absorbância a 650 nm obtida aos 2 minutos após efetuada a mistura.

Curva de Calibração

Preparar diluições do Calibrador de FR empregando solução salina 9 g/L como diluente. Multiplicar a concentração do Calibrador de FR pelo fator correspondente indicado na tabela, para obter a concentração de FR das diluições.

DILUIÇÃO	1	2	3	4	5
Calibrador (µL)	30	60	120	180	240
Solução Salina (µL)	210	180	120	60	-
Fator	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0

Calibração

Curva de calibração: Calcular a diferença de absorbâncias ($A_{\text{Calibrador}} - A_{\text{Branco}}$) de cada ponto da curva de calibração e representar os valores achados contra as concentrações de FR. A concentração de Fator Reumatóide na amostra calcula-se por interpolação da sua diferença de absorbâncias ($A_{\text{Amostra}} - A_{\text{Branco}}$) na curva de calibração.

Recomenda-se fazer a calibração, pelo menos, a cada 2 meses, depois de uma mudança do lote de reagente ou quando os procedimentos de controle de qualidade o exigirem.

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência.

Sensibilidade

Uma amostra não contendo FR, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média e o desvio padrão foram calculados a partir de 20 determinações. A sensibilidade que indica o limite de detecção do método é 2,0 IU/mL.

Linearidade

A reação é linear até 160 IU/mL ou (valor aproximado dependendo da concentração do calibrador mais elevado). Para amostras com valores acima de 160 IU/mL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 150 mmol/L (0,85%), repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

Concentração média	CV	n
24 IU/mL	5,3%	20
39 IU/mL	5,6%	20

Reprodutibilidade

Concentração média	CV	n
24 IU/mL	6,6%	25
39 IU/mL	6,1%	25

Efeito Prozona

A técnica não apresenta efeito prozona até 800 IU/mL.

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Soro adultos: Até 30 IU/mL.

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.

Referências Bibliográficas

1. Melamies LM, Ruutsalo MH, Nissilä H. Evaluation of a quantitative immunoturbidimetric assay for rheumatoid factors. Clin Chem 1986; 32: 1890-1894.
2. Winkles JW, Lunec J, Gray L. Automated enhanced latex agglutination assay for rheumatoid factors in serum. Clin Chem 1989; 35: 303-307.
3. Muic V, Dezelié G, Dezelié N, Richter B. A photometric latex test for rheumatoid factors. Scand J Rheumatol 1972; 1: 181-187.

4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.

• A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megaohms ou condutividade < 10 microsiemens.

No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACCPress, 2000. 6. Friedman.

6 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentações

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2	Reagente 3
BA235-50	50 mL	1 x 40 mL	1 x 10 mL	1x 2 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União

CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil

Tel. +55 31 3657-0051

www.bioanalitica.com.br

E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br

CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira

SAC: 0800 006 8111

E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Abril/2022.