

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

- Melamies LM, Ruutsalo MH, Nissilä H. Evaluation of a quantitative immunoturbidimetric assay for rheumatoid factors. Clin Chem 1986; 32: 1890-1894.
- Winkles JW, Lunec J, Gray L. Automated enhanced latex agglutination assay for rheumatoid factors in serum. Clin Chem 1989; 35: 303-307.
- 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 megahoms 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. AAC Press, 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.