

# FR TURBIDIMETRIA

## MÉTODO

Turbidimetria.

## FINALIDADE

Reagentes para a determinação quantitativa dos Fatores Reumatóides (FR) no soro por turbidimetria. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

## FUNDAMENTO

O teste baseia-se na aglutinação das partículas de látex recobertas com gama-globulina humana quando misturadas com soro de pacientes contendo fatores reumatóides (FR). A concentração de FR na amostra é diretamente proporcional à aglutinação obtida, que é medida por turbidimetria.

## SIGNIFICADO CLÍNICO

Os fatores reumatóides constituem um grupo de anticorpos do tipo IgM (apesar de que também já foi descrita a presença de IgA e IgG) que aparecem em 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.

Os fatores reumatóides humanos reagem com o determinante antigênico localizado no domínio Fc da cadeia pesada das moléculas IgG. Entretanto, existe uma forte controvérsia sobre sua especificidade, já que tem-se demonstrado uma união multiespecífica, não só contra IgG humana mas também frente a antígenos nucleares e também frente a algumas IgG de origem animal.

Mais da metade da população maior de 65 anos sofre em algum grau de síndromes reumáticas. Neste sentido, a determinação quantitativa dos FR é altamente indicativa da extensão da enfermidade e permite ao médico aliviar de forma adequada os sintomas desde as fases prematuras da mesma.

A associação entre positividade em soro para FR com os estados inflamatórios crônicos surge porque os FR são induzidos por um processo de imunogenização crônica. Assim, o acompanhamento periódico dos níveis de FR presentes no soro, embora não relacionado diretamente com a resposta imunológica original, é muito valioso na hora de se avaliar o efeito da terapia, permitindo uma melhor adequação da mesma às condições particulares do paciente.

## QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO

O sistema FR-TURBIDIMETRIA é um ensaio quantitativo, envolvendo reação antígeno-anticorpo em que a aglutinação formada é medida por turbidimetria.

## IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

1. Padrão FR - Contém soro humano liofilizado. A concentração de FR vem indicada no rótulo do frasco. O valor de concentração é rastreável ao Material de Referência da OMS W1066 (International Laboratory for Biological Standards, Amsterdam).
2. Látex FR - Contém suspensão de partículas de látex sensibilizadas com gama-globulina humana e azida sódica 14,6 mmol/L.
3. Tampão - Contém tampão Tris 20 mmol/L, pH 8,2 e azida sódica 14,6 mmol/L.

## PREPARO DO PADRÃO

Reconstituir o Padrão FR (1) liofilizado com 3,0 mL de água destilada ou deionizada. Estável por um mês entre 2-8 °C.

## 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 e se evite a contaminação durante o uso.

## Sinais de Deterioração dos Reagentes

**Padrão:** Presença de umidade.

**Reagentes:** Presença de partículas, turbidez e absorção do Branco superior a 1,400 em 650nm.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Tubos e pipetas;
- NaCl 0,9 g%;
- Cronômetro;
- Banho-Maria a 37 °C.
- Espectrofotômetro (leitura em 650 + 20 nm).

## PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

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.

O Látex FR (2) e o Tampão (3) contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos e mucosas. Não aspirar ou ingerir.

Embora, contendo azida sódica como preservativo, todo cuidado deve ser tomado para evitar contaminação bacteriana.

O Padrão FR (1), derivado de sangue humano, foi testado para anticorpos anti-HCV e anti-HIV e antígeno HBsAg e apresentou resultados negativos. No entanto, deve ser tratado com precaução, como potencialmente infectante. Manusear e descartar segundo as normas de biossegurança.

Todo o material contaminado deve ser autoclavado por 1 hora a 120 °C ou deixado em solução de hipoclorito de sódio a 10% por 1 hora.

De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.

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.

Não deve ser utilizada a boca para pipetagem de reagentes, amostra ou qualquer outra substância.

Em caso de acidentes tomar as medidas cabíveis de primeiros socorros.

## AMOSTRA

SORO.

Não usar amostra hemolisada ou lipêmica.

No soro, os Fatores Reumatóides são estáveis por 7 dias a 2-8 °C.

NOTA: É recomendável que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas em Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que erros advindos da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

## LIMITAÇÕES DO MÉTODO

Reações falso-positivas (3 a 5%) podem ocorrer com soros de pessoas aparentemente saudáveis. Reações falso-positivas podem ocorrer em outras doenças distintas da artrite reumatóide como a mononucleose infecciosa, sífilis, hepatites, outras enfermidades e ainda em determinadas pessoas de idade avançada.

## PROCEDIMENTO DO TESTE E CURVA DE CALIBRAÇÃO

1. Pré-aquecer os reagentes e o equipamento a 37 °C.
2. Homogeneizar o Látex FR antes do uso.
3. Ajustar o Zero de absorvância do equipamento com água deionizada em 650 nm.
4. Pipetar nas cubetas ou tubos de ensaio:

	Branco	Padrão	Teste
Tampão (3)	800 µL	800 µL	800 µL
Água deionizada	10 µL	-----	-----
Padrão FR (1)	-----	10 µL	-----
Soro	-----	-----	10 µL
Látex FR (2)	200 µL	200 µL	200 µL

5. Misturar e inserir a cubeta imediatamente no porta cubetas termostaticado a 37 °C e acionar o cronômetro.

6. Após 2 minutos, fazer as leituras fotométricas (absorvância) do Branco, Padrão e Teste em 650 nm.

## Cálculos

A concentração de FR pode ser calculada de duas maneiras:

### 1. Cálculo da Concentração dos Testes na Curva de Calibração

Interpolar o valor da diferença de absorção (At-Ab) de cada Teste (diferenças de absorção de cada Teste menos a absorção do Branco) no Gráfico da Curva de Calibração e encontrar os respectivos valores de concentração de cada Teste em UI/mL.

### Curva de Calibração

Deve ser utilizada para se obter uma maior exatidão nos resultados.

Preparar diluições do Padrão FR (1) já dissolvido, empregando solução salina 0,9%, da seguinte maneira:

Diluição	1	2	3	4	5
Padrão FR (µL)	10	20	40	60	80
Solução Salina (µL)	70	60	40	20	-----
Fator	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0

### Atenção

A concentração de FR nas respectivas diluições é obtida multiplicando a concentração do Padrão FR (valor indicado no rótulo do frasco) pelo Fator correspondente (Ver Tabela). Exemplo

$C_p = 170 \text{ UI/mL}$  (Ver concentração no rótulo do frasco)

Fatores de Diluição: 0,125 - 0,25 - 0,5 - 0,75 e 1,0

Concentração de FR em UI/mL nos Padrões diluídos:

21,25 - 42,5 - 85 - 127,5 e 170.

### Dosagem dos Padrões

1. Pré-aquecer os reagentes e o equipamento a 37 °C.
2. Ajustar o Zero de absorvância do equipamento com água deionizada em 650 nm.
3. Dosar os 5 Padrões diluídos seguindo o quadro abaixo:

	Branco	Padrões diluídos (1 a 5)
Tampão (3)	800 µL	800 µL
Água deionizada	10 µL	-----
Padrão FR (1)	-----	10 µL de cada Padrão
Látex FR (2)	200 µL	200 µL

4. Misturar e inserir a cubeta imediatamente no porta cubetas termostaticado a 37 °C e acionar o cronômetro.

5. Após 2 minutos, fazer as leituras fotométricas (absorvância) em 650 nm de cada padrão.

### Traçado do Gráfico da Curva de Calibração

Calcular a diferença de absorção (Ap-Ab) de cada ponto da curva de calibração, ou seja, diferenças de absorção de cada Padrão menos a absorção do Branco. Em um papel milimetrado traçar o gráfico lançando diferenças de absorção dos Padrões na ordenada contra concentração de FR (UI/mL) na abscissa.

### 1. Cálculo da Concentração dos Testes pelo Fator de Calibração

Usando o Fator de Calibração para calcular a concentração, a linearidade é reduzida para 120 UI/mL.

Diluir o Padrão FR (1) fazendo a diluição 2 conforme a curva de calibração da seguinte maneira:

20 µL do Padrão FR + 60 µL de solução salina 0,9%.

Multiplicar a concentração do Padrão FR (indicada no rótulo do frasco) pelo fator de diluição 0,25.

### Exemplo

Cp = 170 UI/mL

Concentração do Padrão diluído:  $170 \times 0,25 = 42,5$  UI/mL

Cp = 42,5 UI/mL

Ap = Absorbância do Padrão

At = Absorbância do Teste

Ab = Absorbância do Branco

Calcular a diferença de absorção (Ap - Ab), ou seja, diferença de absorção do Padrão menos a absorção do Branco.

Calcular também a diferença de absorção (At - Ab) de cada Teste, ou seja, diferenças de absorção de cada Teste menos a absorção do Branco.

$FC = Cp \div (Ap - Ab) = 42,5 \div (Ap - Ab)$

$Ct = FC \times (At - Ab)$

### VALORES DE REFERÊNCIA

Adultos: menor que 30 UI/mL

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

### AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado pela maioria dos analisadores automáticos.

### CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve ter implementado um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC).

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizados soros controles reumáticos.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

### CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO<sup>7</sup>

#### Linearidade

A reação é linear até 160 UI/mL. Usando o Fator de Calibração, a linearidade vai até 120 UI/mL.

Para valores maiores, diluir a amostra a 1/5 com água deionizada e repetir a medição. Multiplicar o resultado final por 5. A linearidade pode variar consideravelmente de acordo com o equipamento utilizado.

#### Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 24 e 39 UI/mL. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 5,3 e 5,6%, respectivamente.

#### Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 25 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 24 e 39 UI/mL. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 6,6 e 6,1%, respectivamente.

#### Limite de Detecção

LD = 6 UI/mL de FR.

O intervalo de medida é de 6 até 160 UI/mL.

#### Efeito de altas concentrações (Efeito Zona)

O ensaio não apresenta o efeito zona até uma concentração de FR inferior a 800 UI/mL.

#### Interferências

A hemólise (hemoglobina até 1000 mg/dL), a lipemia (triglicérides até 1000 mg/dL), bilirrubina até 20 mg/dL não interferem.

Alguns medicamentos e substâncias podem interferir.

#### Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 50 amostras de soro humano com valores desconhecidos.

Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com uma equação de regressão linear onde  $y = 0,912x + 17$ .

### OBSERVAÇÕES

1.A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.

2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.

3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Melamies LM et al. Clin Chem 1986; 32: 1890-1894

2. Winkles JW et al. Clin Chem 1989; 35: 303-307

3. Muic V et al. Scand J Rheumatol 1972; 1: 181-187

4. Winkles JW et al. Clin Chem 1987; 33: 685-689

5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

7. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto

### APRESENTAÇÃO

Ref.	Nº de testes	Reagentes	Volume
472/11261P-50	50	Padrão FR	1 x 3 mL
		Látex FR	1 x 10 mL
		Tampão	1 x 40 mL

### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

#### Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A In Vitro Diagnóstica garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Fabricante legal: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0004-69

AFE Nº 8283957.

Endereço: Rua Carmelita Toledo, 240, Eymard, CEP: 31.910-570. Belo Horizonte/MG.

Regularizado por: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AFE Nº 800222-3

Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773

ANVISA: 80022230124

#### Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: (31) 3067-6400 E-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

### SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:



Atenção, ler a instrução de uso



Número de lote



Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



Catálogo



Armazenar entre 2 - 8°C



Fabricante



Validade



Testes por kit

Revisão: 07/24