

FR Turbidimetria

MÉTODO:

Teste imunoturbidimétrico.

FINALIDADE DE USO:

Reagentes para determinação quantitativa de Fatores Reumatóides em soro humano. 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 reumátoides (FR). A concentração de FR na amostra é diretamente proporcional à aglutinação obtida, que é medida por turbidimetria.

É um ensaio quantitativo, envolvendo reação antígeno-anticorpo em que a aglutinação formada é medida por turbidimetria.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2-8°C.

RGT - LÁTEX FR: Contém suspensão de partículas de látex sensibilizadas com gama-globulina humana e azida sódica 14,6 mmol/L.

BUF - TAMPÃO: Contém tampão Tris 20 mmol/L, pH 8,2 e azida sódica 14,6 mmol/L.

STD - 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).

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES:

PREPARO DO PADRÃO

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

Homogeneizar o Látex FR com suavidade antes de usá-lo.

A presença de turbidez que pode ser observada em alguns lotes não afeta a funcionalidade do padrão.

ESTABILIDADE:

Conservar entre 2 a 8°C.

Não congelar ou expor o produto a temperaturas elevadas.

Os componentes são estáveis uma vez abertos até à data de validade indicada no rótulo se estes forem mantidos à temperatura de armazenamento recomendada, bem fechados e se se tiver cuidado de evitar a contaminação durante a sua utilização. Sobre a estabilidade em uso: os reagentes abertos e armazenados no compartimento refrigerado do analisador são estáveis durante 2 meses.

Indicações de deterioração: a absorbância do branco por cima do limite indicado na parametrização do analisador.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

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

TRANSPORTE

O produto pode ser transportado a uma temperatura de até 37°C por um período de 7 dias sem que o mesmo sofra perda de estabilidade. No entanto, recomendamos que o mesmo seja transportado em caixas de papelão revestidas de isopor contendo gelo reciclável.

PRECAUÇÕES:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- O reagente contém azida de sódio que pode reagir com cobre e chumbo dos encanamentos formando sais explosivos.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- Não congelar; Látex ou Tampão congelados podem alterar a funcionalidade do teste.
- 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.
- 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.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

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.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV.
- Cronômetro.
- Cubetas para amostras e reagentes.
- Banho-maria/Termostatizador.
- Pipetas.
- NaCl 0,9 g%;

PROCEDIMENTO DO TESTE

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

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

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

5. Após 2 minutos, fazer as leituras fotométricas (absorbância) 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 (3) 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:

Cp = 170 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 absorbância do equipamento com água deionizada em 650 nm.

3. Dosar os 5 Padrões diluídos segundo o quadro abaixo:

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

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

5. Após 2 minutos, fazer as leituras fotométricas (absorbância) 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 (3) 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 x 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 ÷ (Ap - Ab) = 42,5 ÷ (Ap - Ab)

Ct = FC x (At - Ab)

CALIBRAÇÃO:

Todos os dias deve ser realizado um branco de reagente e uma calibragem pelo menos a cada 2 meses, depois de uma mudança de lote de reagente ou quando os procedimentos de controle de qualidade o exigirem.

CONTROLE DE QUALIDADE:

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos. 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.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES DO TESTE:

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.

Reações falso-positivas (3 a 5%) podem ocorrer com soros de pessoas aparentemente sadias. 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.

VALORES DE REFERÊNCIA:

É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência. O valor a seguir pode ser usado como diretriz.

Adultos: < 30 UI/mL.

Os resultados obtidos para amostras de pacientes devem ser correlacionados com achados clínicos do paciente para interpretação e diagnóstico.

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores será fornecida quando solicitada.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO:**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.

Limite de Detecção

LD = 6 UI/mL de FR.

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

Repetibilidade

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.

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 $y = 0,912x + 17$.

Efeito pró-zona

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

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. Nº	Reagente	Volume
11261P-50	RGT BUF STD	1 x 10 mL 1 x 40 mL 1 x 3 mL

BIBLIOGRAFIA:

- Melamies LM et al. Clin Chem 1986; 32: 1890-1894
- Winkles JW et al. Clin Chem 1989; 35: 303-307
- Muic Vet ai. Scand J Rheumatol 1972; 1: 181 -187
- Winkles JW et al. Clin Chem 1987; 33: 685-689
- Young OS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- IN VITRO DIAGNÓSTICA: Informe técnico do produto.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

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

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460568 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

Data limite de utilização

Límite de temperatura (conservar a)

Número do Catálogo

Consultar Instrução de Uso

Número do lote

Produto Diagnóstico In Vitro

Data de Fabricação