



TURB FR - Fator Reumatóide FR

Finalidade:

Reagente utilizado na determinação quantitativa do Fator Reumatóide no soro ou plasma humano por imunoturbidimetria. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

Quando o anticorpo IgG humano que recobrem as partículas coloidais douradas, reagem com a Fator Reumatóide presente na amostra, formam-se os imunocomplexos insolúveis medidos por espectrofotometria a 600nm.

Metodologia:

Imunoturbidimetria - Colloidal Gold

Significado Clínico:

O fator reumatóide é um anticorpo, em geral da classe IgM, dirigido contra o fragmento Fc da IgG. A sua pesquisa e dosagem são úteis para o diagnóstico da artrite reumatóide (AR). Está presente em aproximadamente 80% dos pacientes adultos portadores de AR; na AR juvenil é encontrado em apenas 20% dos pacientes. São consideradas significativas, para fins diagnósticos, títulos maiores que 80 UI/mL. O FR não é específico da AR, sendo detectado em títulos menores em outras doenças reumáticas auto-imunes como: LES, escleroderma, síndrome de Sjogren, dermatomiosites e síndromes de superposição; algumas doenças infecciosas e em entidades caracterizadas por gamopatias. Reações falso-positivas são encontradas em 5% dos indivíduos normais, principalmente em idosos.

Reagentes:

Reagente 1 - Diluente: Conservar entre 2 e 8° C. Contém: Solução Tampão Tris pH 8, PEG, detergentes, NaCl e azida sódica 0,1 g/L como conservante.

Reagente 2 - Anticorpo: Conservar entre 2 e 8° C. Contém: Suspensão de partículas coloidais douradas recobertas com anticorpo IgG humano ($\pm 60\mu\text{g/mL}$), em tampão e azida sódica 0,1 g/L.

Calibrador: Conservar entre 2 e 8° C. O Calibrador FR é composto de fluido sintético biológico com concentração de Fator Reumatóide humano pré-definida. Contém: HEPES pH 7,4 buffer e azida sódica 0,1 g/L. As concentrações são variáveis por lote e vem indicada no rótulo do frasco.

Os reagentes estão prontos para uso e quando não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para uso diagnóstico "in vitro".

Os produtos de origem humana foram testados e estão livres de HBsAg e anticorpos para HCV e HIV, porém este material deve ser tratado cuidadosamente como potencialmente infeccioso.

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante. Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C.
2. Espectrofotômetro ou fotômetro capaz de medir absorbância em 600nm.
3. Pipetas de vidro e/ou automáticas.
4. Controles Ebram.
5. Medidor de tempo.
6. Tubo de ensaio

Amostra:

É recomendado soro livre de hemólise. O Fator Reumatóide é estável no soro por 48 horas se for refrigerado entre 2 - 8°C. Para período mais prolongado, congelar a amostra (-20°C) até no máximo 3 meses (congelar somente um vez). Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 8 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

Interferências:

Triglicérides até 4,5 mmol/L, bilirrubina até 500 $\mu\text{mol/dL}$, hemoglobina até 200 $\mu\text{mol/L}$, heparina até 0,5 g/L, citrato de sódio até 5g/L, EDTA até 5g/L e fluoreto de sódio até 4 g/L não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do Fator Reumatóide, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 600nm.
Tipo de Reação: Ponto final
Direção: Crescente
Pré-diluição da amostra: 1:5
Vol. Amostra Diluída: 15 μL
Vol. Do Diluente: 160 μL
Vol. Do Anticorpo: 95 μL
Tempo de Incubação: 12min

Calibração:

Utilizar o Calibrador FR incluso no KIT. A concentração de Fator Reumatóide no calibrador é rastreável ao método internacional NIBSC 64/2 (National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom).

Procedimento Automatizado:

Vide manual para utilização do equipamento, protocolo específico e instruções de uso do reagente. Para analisadores onde não seja possível o preparo automático da curva de calibração, deve-se seguir orientação do preparo dos pontos de calibração descrito, em Preparo da Curva de Calibração para Analisadores Automáticos, no verso dessa instrução de uso.

Procedimento Manual:

* Pré-diluir as Amostras e os Controles, em solução fisiológica, na razão 1:5 (100 μL de amostra + 400 μL de solução fisiológica).

PREPARO DOS PONTOS DE CALIBRAÇÃO

Identificar 6 tubos de ensaios (1 a 6).
Adicionar ao tubo 1, 400 μL de solução fisiológica + 100 μL de calibrador. Homogeneizar.
Adicionar aos tubos 2 a 6, 250 μL de solução fisiológica.
Transferir 250 μL do conteúdo do tubo 1 para o tubo 2. Homogeneizar.
Transferir 250 μL do conteúdo do tubo 2 para o tubo 3. Homogeneizar.
Transferir 250 μL do conteúdo do tubo 3 para o tubo 4. Homogeneizar.
Transferir 250 μL do conteúdo do tubo 4 para o tubo 5. Homogeneizar.

	Tubo1	Tubo2	Tubo3	Tubo4	Tubo5	Tubo6
Fator de diluição	1,0	0,5	0,25	0,125	0,063	0

Obs: a concentração de cada ponto é obtida multiplicando-se a concentração do calibrador pelo fator de diluição.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Separar tubos de ensaio para cada ponto de calibração, branco, amostra/soro controle e realizar os procedimentos conforme tabela abaixo

	Branco	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	15 μL	-	-
Calibrador	-	15 μL	-
Amostra/S.C.	-	-	15 μL
Reagente R1	160 μL	160 μL	160 μL
Reagente R2	95 μL	95 μL	95 μL

Incubar os tubos a 37°C por 30 segundos e realizar leitura (A1) à 600nm zerando o aparelho com água destilada.
Incubar os tubos a 37°C por 12 minutos. Realizar leitura (A2) à 600nm zerando o aparelho com água destilada.

Cálculos:

Abs.= Absorbância

1. A Abs final dos pontos de calibração = (A2 - A1) dos pontos de calibração - (A2 - A1) branco do reagente

2. Confecção da Curva de calibração

-Em um papel milimetrado plotar as absorbâncias finais, dos pontos de calibração no eixo das ordenadas. (eixo y)
-Plotar as concentrações de cada ponto de calibração, na ordem crescente, no eixo das abscissas. (eixo x)

3. A Abs final de amostra =

(A2 - A1) amostra - (A2 - A1) branco do reagente

-Interpoler as absorbâncias finais de cada amostra / soro controle, na curva de calibração para determinar a respectiva concentração.

Exemplo:

1. Abs.Final do ponto de calib.= (A2 - A1)calib - (A2 - A1)branco
Abs.Final do ponto de calib.= (0,625 - 0,142) - (0,120 - 0,080)
Abs.Final do ponto de calib.= 0,443
obs: realizar esse cálculo para todos os pontos da curva de calibração.

2. Abs.Final de amostra = (A2 - A1) amostra - (A2 - A1)branco
Abs.Final de amostra = (0,295 - 0,098) - (0,140 - 0,075)
Abs.Final de amostra = 0,132

Utilizar a curva de calibração no papel milimetrado para obter as concentrações das amostras.

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 1360 UI/mL. Valores superiores, diluir a amostra com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado pela fator de diluição. A linearidade pode variar consideravelmente dependendo do instrumento utilizado. O limite da linearidade depende da relação de amostra/reagente. Aumenta reduzindo o volume da amostra, enquanto que a sensibilidade do ensaio diminuirá proporcionalmente.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos Soros Controle de Proteína Nivel I e Nivel II Ebram cód. 1019 e 1020.

Valores Esperados:

Menor que 20 UI/mL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

A comparação com Nefelometria nos proporcionou os seguintes resultados: $y = 0,9978x - 2,4553$; $r = 0,9965$

Precisão:

* Intra - Precisão analisada

3 amostras de soro foram consecutivamente dosadas 20 vezes no Cobas Mira.

Valores Esperados	n	Média	S.D.	C.V.
Baixo	20	22	2,1	1,5
Médio	20	27	1,5	2,3
Alto	20	49	0,9	2,6

* Inter-Precisão de exame

2 soros controle foram dosados diariamente no Cobas Mira depois da calibração.

Valores Esperados	n	Média	S.D.	C.V.
Médio	64	27	3,28	2,53
Alto	64	49	3,25	3,05

Exatidão:

Os controles são analisados em duplicidade no Cobas Mira.

Controle	Valores analisados	Valores das Medidas (UI/mL)
Nivel I Ebram	22 (10 - 33)	25
Nivel II Ebram	49 (19 - 79)	47
Liquichck 1	33 (15 - 50)	32
Liquichck 2	57 (25 - 81)	60

Sensibilidade Metodológica:

0,737 UI/mL

Especificidade:

Nos estudos comparativos realizados apresentamos dados determinados em um analisador. A comparação com soros controles já validados mostrou uma especificidade analítica adequada

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Automação: R1= 1 x 25mL + R2= 1 x 15mL + Cal= 1 x 1mL
Linha H917/Advia: R1= 1 x 60mL + R2= 1 x 40mL + Cal= 1 x 1mL
Linha SAT: R1= 1 x 40mL + R2= 1 x 20mL + Cal= 1 x 1mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

Referência Bibliográfica:

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, ed. by Carl A. Burtis and Edward R. Ashwood, W.B. Saunders Company, Philadelphia, Second Ed., (1986).
2. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia (1989).
3. Wick, Pinggera W., Lehmann P., Ferritin in Iron Metabolism - Diagnosis of Anemias. Springer-Verlag, Sec. Ed. (1995).
4. Morikawa K., Oseko F., Morikawa S., A role for ferritin in hematopoiesis and the immunesystem. Leuk-Lymphoma 18 (5-6): 429-433, (1995).
5. Arquivo Ebram.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	D-R-S-SR1
Calibration Mode:	STD NONLINEAR (ou LOGIT/LOG4)
Reagent Blank:	NO BLANK
Cleaner:	NO
Wavelength:	800nm
Decimal Position:	1
Unit:	U/ml
ANALYSIS	
Dilution Name:	H2O
Factor:	NO
Time:	NO
Post Dil Factor:	2.00
Sample:	Cycle: 2
Volume:	Dil: 0.0
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 0.0
Start Reagent 1:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 0.0
Start Reagent 2:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 0.0
CALCULATION	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.000
Offset:	0.000
Test Range Low:	ON
High:	ON
Norm Range Low:	0
High:	20
Number of Steps:	1
Calculation Stan A:	ENDPOINT
Readings First:	2
Last:	30
Reaction Limit:	
Point:	
Calib Interval:	
CALIBRATION	
Reagent Blank:	ON REQUEST
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	NO
High:	NO
Blank Range Low:	NO
High:	NO
Factor:	
Calibrator Pos:	(**)
STD1:	(*)
STD2:	(*)/2
STD3:	(*)/4
STD4:	(*)/8
STD5:	(*)/16
STD6:	0.0
STD7:	
STD8:	
Calc Model:	LOGIT/LOG4
Correction STD:	NO
Replicate:	SINGLE
Deviation:	10%
CONTROL	
CS1 - NO	
CS2 - NO	
CS3 - NO	

(*) digitar o valor correspondente ao valor do calibrador
 (**) digitar a posição do calibrador correspondente na rack CAL/CS (a curva de calibração será realizada automaticamente pelo analisador)
 (***)

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name:	Fator Reumatóide	Test: FR		
Test Bar Code:				
Test Type:	Endpoint	Curve Type: 2-Inv5		
Units:	U/ml	Nº of Decimal Places:		
Primary Wavelength:	600nm	Secondary Wavelength:		
Read Time Interval:	20	Sample Blank:		
Factor:	1.0000			
Calibration Interval:	999			
Normalization Interval:	999			
Nº of Calibrators:	6	Nº of Replicates:		
Low Blank A Limit:	-0.100	High Blank A Limit:		
Low A Limit:	-0.1000	High A Limit:		
Low Normal:	0	High Normal:		
Linearity Limit:		Curve S.D. Limit:		
Test Name:	Fator Reumatóide	Test: FR		
Test Bar Code:				
Sample Volume:	5ul	Sample Diluent:		
Reagent Dilution Ratio:	1	Predilution Ratio:		
Reagent Dilution:				
	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 1	170	FR1		30sec
Reagent 2	100	FR2		450sec
Reagent 3				
Reagent 4				
Control:				

APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA PLUS

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	D-R-S-SR1
Calibration Mode:	LOGIT/LOG4
Reagent Blank:	NO BLANK
Cleaner:	NO
Wavelength:	800nm
Decimal Position:	1
Unit:	U/ml
ANALYSIS	
Dilution Name:	H2O
Factor:	NO
Time:	NO
Post Dil Factor:	2.00
Sample:	Cycle: 2
Volume:	Dil: 0.0
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 0.0
Start Reagent 1:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 0.0
Start Reagent 2:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 0.0
CALCULATION	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.000
Offset:	0.000
Test Range Low:	ON
High:	ON
Norm Range Low:	0
High:	20
Number of Steps:	1
Calculation Stan A:	ENDPOINT
Readings First:	2
Last:	30
Reaction Limit:	
Point:	
Calib Interval:	
CALIBRATION	
Reagent Blank:	ON REQUEST
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	NO
High:	NO
Blank Range Low:	NO
High:	NO
Factor:	
Calibrator Pos:	(**)
STD1:	(**)
STD2:	(**)
STD3:	(**)
STD4:	(**)
STD5:	(**)
STD6:	(**)
STD7:	(**)
STD8:	(**)
Calc Model:	
Correction STD:	NO
Replicate:	SINGLE
Deviation:	10%
CONTROL	
CS1 - NO	
CS2 - NO	
CS3 - NO	

(*) digitar o valor correspondente ao valor do calibrador
 (**) digitar a posição do calibrador correspondente na rack CAL/CS (a curva de calibração será realizada automaticamente pelo analisador)
 (***) inserido automaticamente pelo analisador

PREPARO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANALISADORES QUE NÃO REALIZAM A CURVA AUTOMATICAMENTE (Ex. Express e Selectra)

Identificar 6 tubos. (1 a 6)
 Acrescentar nos tubos 1, 2, 3, 4 e 5 500 ul de salina
 Adicionar ao tubo 5 e 6 500 ul de calibrador FR
 Após homogeneização do tubo 5, transferir para o tubo 4 500 ul do conteúdo do tubo 5. Homogeneizar
 Transferir para o tubo 3 500 ul do conteúdo do tubo 4. Homogeneizar.
 Transferir para o tubo 2 500 ul do conteúdo do tubo 3. Homogeneizar

Posição	1	2	3	4	5	6
Diluição	0	1:16	1:8	1:4	1:2	1:1
Fator	0	0,0625	0,125	0,25	0,5	1,0

Obs: a concentração de cada ponto é o valor do calibrador multiplicado pelo fator

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	FR
Abbr Name:	FR
Mode:	Endpoint
Wavelength:	620nm
Units:	U/ml
Decimals:	1
Low Conc:	0.0 U/ml
High Conc:	120.0 U/ml
Calibrator Name:	Calib FR
Renal:	1
Number:	6
Concentration:	(*)
Interval:	(*)
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	(*)
Ref Male High:	(*)
Ref Female Low:	(*)
Ref Female High:	(*)
Ref Pad Low:	(*)
Ref Pad High:	(*)
Control 1:	
Control 2:	
Control 3:	
Correlat Factor:	1.000
Correlat Offset:	0.000
DUAL MODE	
Name:	FR
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25ml
Normal Volume:	220ul
Runn Volume:	224ul
SAMPLE	
Normal Volume:	8ul
Runn Volume:	4ul
R2 Bottle:	5ml
Normal Volume:	130ul
Runn Volume:	130ul
Predilution:	NO
Slope Blank:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Point One, Two:	
Incubation Time:	6.5 min
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	YES (**)
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	(**)
MONO MODE	
Name:	
Sample Blank:	
R1 Bottle:	
Normal Volume:	
Runn Volume:	
SAMPLE	
Normal Volume:	
Runn Volume:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	
Point One, Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	
High Absorbance:	
R ABS L Limit:	
R ABS H Limit:	
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	

(*) Introduzido pelo Operador
 (**) Calculado pelo equipamento
 (***)
 (#) Executar um "branco de reagente" antes de efetuar a calibração do ensaio

Disponos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.