

COD 31322 1 x 20 mL	COD 31922 1 x 50 mL	COD 31030 2 x 200 mL
CONSERVAR A 2-8°C		
Reagentes para medir a concentração de FR Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos		

RHEUMATOID FACTORS (RF)



FACTORES REUMATÓIDES (FR) LATEX

FUNDAMENTO DO MÉTODO

Os factores reumatóides (FR) séricos provocam uma aglutinação das partículas de latex cobertas com gamma-globulina humana. A aglutinação das partículas de latex é proporcional à concentração de FR e pode ser quantificada por turbidimetria¹⁻³.

CONTEÚDO

	COD 31322	COD 31922	COD 31030
A. Reagente	1 x 16 mL	1 x 40 mL	2 x 160 mL
B. Reagente	1 x 4 mL	1 x 10 mL	2 x 40 mL
S. Padrão	Para 1 x 3 mL	Para 1 x 3 mL	Para 2 x 3 mL

COMPOSIÇÃO

- A. Reagente: Tampão Tris 20 mmol/L, azide sódica 0,95 g/L, pH 8,2.
 B. Reagente: Suspensão de partículas de latex sensibilizadas com gamma-globulina humana, azide sódica 0,95 g/L.
 S. Padrão de FR. Soro humano. A concentração de factores reumatóides vem indicada na etiqueta do frasco. O valor de concentração é traçável ao Material de Referência da OMS W1066 (International Laboratory for Biological Standards, Amsterdam).

O soro humano utilizado na preparação do padrão era negativo para o antígeno HBs e para os anticorpos anti-HCV e anti-HIV. No entanto, o padrão deve tratar-se com precaução por ser potencialmente infeccioso.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C.

Os Reagentes e o Padrão são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagentes: Presença de partículas, turvação, absorvância do branco superior a 1,400 a 650 nm.
- Padrão: Presença de humidade.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Padrão de FR (S): Reconstituir o liofilizado com 3,0 mL de água destilada. Estável 1 mês a 2-8°C

Curva de Calibração: Preparar diluições do Padrão de FR empregando solução salina 9 g/L como diluente. Multiplicar a concentração do Padrão de FR pelo factor correspondente indicado na tabela, para obter a concentração de FR das diluições (Nota 1).

DILUIÇÃO	1	2	3	4	5
Padrão de FR (µL)	10	20	40	60	80
Sol. salina (µL)	70	60	40	20	—
Factor	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0

MATERIAL ADICIONAL

- Banho de água a 37°C.
- Analisador, espectrofotómetro ou fotómetro com cuvette termostaticada a 37°C para leituras a 650 ± 20 nm.

AMOSTRAS

Soro recolhido mediante procedimentos standard.

FR no soro é estável 7 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

- Pré-aquecer os Reagentes e o equipamento a 37°C.
- Ajustar o espectrofotómetro a zero contra a água destilada (Nota 2).
- Pipetar numa cuvette:

Reagente A	0,8 mL
Água (Branco), Padrão (S) ou Amostra	10 µL
Reagente B (Nota 3)	0,2 mL

- Misturar e inserir a cuvette no equipamento. Ligar o cronómetro.
- Ler a absorvância a 650 nm obtida aos 2 minutos após efectuada a mistura.

CÁLCULOS

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

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro, adultos⁴: Até 30 IU/mL

Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controle Reumático níveis I (cod. 31213) e II (cod. 31214) para verificar a funcionalidade do procedimento de medida.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Controle de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como nos casos em que os controles não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

– Limite de detecção: 2 IU/mL

– Intervalo de medida: (valor aproximado dependendo da concentração do calibrador mais elevado): 2-160 IU/mL. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/5 com água destilada e repetir a medição (Nota 4)

– Repetibilidade (intraensaio):

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

– Reproducibilidade (interensaio):

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

– Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.

– Fenómeno de zona: A técnica não apresenta fenómeno de zona até 800 IU/mL.

– Interferências: A lipemia (triglicéridos 10 g/L), a hemólise (hemoglobina 10 g/L) e a bilirrubina (20 mg/dL) não interferem. Outros medicamentos e substâncias podem interferir⁵.

Estes dados foram obtidos utilizando um analisador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Os factores reumatóides (FR) são um grupo de anticorpos tipo IgM (ainda que se tenha descrito a presença de IgG e IgA) que reagem contra o fragmento Fc das moléculas IgG.

Os FR aparecem principalmente no soro de pacientes com artrite reumatóide mas também outras doenças podem produzir FR: processos inflamatórios crónicos, doenças infecciosas como endocardite bacteriana subaguda, malária, sífilis, lepra, leishmaniose, tuberculose e variedade de doenças autoimunes como o lupus eritematoso sistémico⁶.

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

NOTAS

- A curva de calibração é linear até 120 IU/mL em alguns equipamentos. Nestes casos a calibração pode realizar-se com um unico padrão de 40 IU/mL. Caso se precise uma maior exactitude, utilizar a curva de calibração multipontual.
- Estes reagentes podem utilizar-se na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.
- Homogeneizar o Reagente B com suavidade antes de usá-lo.
- O intervalo de medida depende da relação da amostra/reagente. O limite superior aumentará reduzindo o volume da amostra, ainda que a sensibilidade do teste diminua proporcionalmente.

BIBLIOGRAFIA

- 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, Dezelic G, Dezelic N, Richter B. A photometric latex test for rheumatoid factors. *Scand J Rheumatol* 1972; 1: 181-187.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. 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.