

Factor Reumatoide (FR)

Determinación cuantitativa de Factores Reumatoides

Solo para uso in vitro en el laboratorio clinico

Conservar a 2-8°C

Ref.: KRF-T42

1x45 mL R1

1x5 mL R2

1x2 mL CAL

FR TURBILATEX



PRINCIPIO DEL METODO

El FR-Turbilatex es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de factores reumatoides (FR) en suero o plasma humano.

Las partículas de látex recubiertas con gammaglobulina humana, son aglutinadas por FR presentes en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de FR de la muestra, y por comparación con un calibrador de FR de concentración conocida se puede determinar el contenido de FR en la muestra ensayada.

SIGNIFICADO CLINICO

Los factores reumatoides son un grupo de anticuerpos dirigidos contra la fracción Fc de las inmunoglobulinas G. Aunque se hallan presentes en un gran número de desordenes reumáticos, tales como el lupus eritematoso sistémico (SLE) y el síndrome de Sjögren, su principal interés clínico radica en el diagnóstico de la artritis reumatoide (RA). Un estudio actual realizado por el "American College of Rheumatology" demostró que el 80,4% de pacientes con artritis reumatoide fueron positivos para el FR.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, pH, 8,2. Azida sódica 0,95.
Látex (R2)	Partículas de látex recubiertas de gammaglobulina humana, pH, 7,4. Azida sódica 0,95 g/L.
FR CAL	Calibrador. Suero humano. La concentración de FR viene indicada en la etiqueta del vial.

PRECAUCIONES

Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBS, HCV, y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

CALIBRACION

La sensibilidad del ensayo y el valor de concentración del Calibrador están estandarizados frente al Patrón Internacional de FR de OMS (WHO 64/2 Rheumatoid Arthritis Serum). No se recomienda para la calibración el uso de otros calibradores de FR comerciales.

PREPARACION

Calibrador FR: Reconstituir (→) el liofilizado con 2,0 mL de agua destilada. Mezclar con suavidad y dejar reposar a temperatura ambiente unos 10 minutos antes de usarlo.

Curva de Calibración (rango de 20 a 160 UI/mL): Preparar las siguientes diluciones del Calibrador de FR en ClNa 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de FR, multiplicar la concentración del Calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador FR (µL)	--	10	25	50	75	100
ClNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

Calibración a un solo punto (rango lineal hasta 100 UI/mL): Preparar una dilución del Calibrador de FR:

30 µL Calibrador de FR + 70 µL ClNa 9 g/L

La concentración de FR de la dilución se calcula multiplicando la concentración del Calibrador de FR por 0,33.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

La congelación de los reactivos de Látex y Diluyente altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos.

Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas y turbidez.

Calibrador reconstituido: Estable 1 mes a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.

- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostabilizable a 37°C para lecturas a 650 nm (600-650 nm).

MUESTRAS

Suero fresco. Estable 8 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas para su eliminación.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 650 nm (600 -650 nm)

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Cal / Muestra
ClNa 9 g/L (µL)	7	--
Calibrador o muestra (µL)	--	7
R.1 Diluyente (mL)	0,9	0,9
R.2 Látex (mL)	0,1	0,1

5. Mezclar y leer la absorbancia a los 2 minutos (A₂) de efectuada la mezcla.

BSM dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado.

CALCULOS

Con curva de calibración (Nota 1): Calcular la diferencia de absorbancias (A₂ - A_{Blanco}) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de FR de cada dilución del Calibrador. La concentración de factores reumatoides en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A₂ - A_{Blanco}) en la curva de calibración.

Calibración a un solo punto:

(A₂ - A_{Blanco}) muestra

x Concentración del Calibrador FR diluido = UI/mL FR

(A₂ - A_{Blanco}) calibrador

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. BSM dispone de sueros control ASO/PCR/FR nivel L y nivel H.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

Hasta 20 UI/mL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Limite de linealidad (para calibración a un solo punto):** hasta 100 UI/mL, en las condiciones descritas del ensayo.

2. **Limite de detección:** valores por debajo de 3 UI/mL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. **Rango de medida (para curva de calibración):** 20-160 UI/mL, en las condiciones descritas del ensayo. Puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado. Las muestras con valores superiores deben diluirse en ClNa 9 g/L y ensayarse de nuevo. La linealidad y el rango de medida dependen de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el limite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.

4. **Sensibilidad:** Δ 3,44 mA. UI/mL.

5. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 800 UI/mL.

6. **Precisión:**

Media (UI/mL)	Intraserie (n=10)		Interserie (n=10)	
	14,9	45,8	14,9	45,8
SD	0,96	1,32	1,2	2,54
CV	6,5	2,9	8,0	5,5

7. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con otro método (x) de características similares. 86 muestras de concentraciones de FR entre 1 y 160 UI/mL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de correlación (r) fue de 0,95 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0,797x - 1,075$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y lípidos (10 g/L), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir.

NOTAS

1. La calibración multipunto da resultados más exactos que el método de calibración a un solo punto.

2. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Frederick Wolfe et al. Arthritis and Rheumatism 1991; 34: 951- 960.
2. Robert W Dornier et al. Clinica Chimica Acta 1987; 167: 1-21.
3. Robert H Shmerling et al. The American Journal of Medicine 1991; 91: 528 - 534.
4. Vladimir Muié et al. Scand J Rheumatology 1972; 1: 181 - 187.
5. Paul R et al. Clin Chem; 1979; 25/11: 1909 - 1914.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACCC Press, 1995.