

FR

Para la determinación cuantitativa de factor reumatoide (FR) humano en suero

Cat. N.° KAI-031

USO PREVISTO

Para la determinación cuantitativa de factor reumatoide humano en suero de pacientes sobre la base de un ensayo inmunoturbidimétrico. PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

INTRODUCCIÓN Y RESUMEN

K-ASSAY® FR está diseñado para la determinación cuantitativa del factor reumatoide (FR) humano mediante un ensayo inmunoturbidimétrico. El factor reumatoide, un anticuerpo autoinmune en el suero del paciente, interactúa con la IgG humana agregada en los complejos inmunes formadores de reactivos. Los complejos inmunes provocan un aumento de la dispersión de la luz, que está relacionado con la concentración de factor reumatoide sérico.

Los autoanticuerpos del isotipo IgG, IgM o IgA, reactivos con la fracción cristalizable (Fc) de IgG, se denominan factores reumatoides. El factor reumatoide se encuentra en el 50-79% de los adultos con artritis reumatoide clásica. Se ha demostrado que la cuantificación del factor reumatoide es útil para el diagnóstico clínico y el pronóstico de la artritis reumatoide^{1,2,3,4,5,6,7,8}.

El factor reumatoide se ha medido utilizando una diversidad de métodos, como la aglutinación, fijación de látex, ensayo nefelométrico y enzoinmunoanálisis de adsorción^{9,10}. **K-ASSAY®** FR utiliza un formato de ensayo inmunoturbidimétrico.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

K-ASSAY® FR cuantifica el factor reumatoide en el suero del paciente sobre la base del ensayo inmunoturbidimétrico. Los calibradores, controles y muestras de los pacientes se transfieren con una pipeta a las tazas de muestra. Los microvolúmenes de muestras y diluyente reactivo se transfieren automáticamente con pipetas a cubetas individuales.

Tras una incubación inicial y la determinación del blanco de la muestra, se añade a las cubetas la gammaglobulina que contiene IgG humana agregada. A continuación, la solución de muestra (autoanticuerpos) y el reactivo de gammaglobulina (antígeno) se mezclan en las cubetas de reacción. Se forman complejos (inmunes) de antígeno-anticuerpo insolubles. Los complejos inmunes provocan un aumento de la dispersión de la luz, que está relacionado con la concentración de factor reumatoide sérico. Tras un período de incubación de alrededor de 5 minutos, la absorbancia de la solución se mide a 340 y 700 nm.

Se genera una curva de calibrado analizando una serie de calibradores de concentraciones conocidas de proteínas y utilizando la capacidad de reducción de datos del instrumento o representando gráficamente de forma manual el cambio en la absorbancia frente a la concentración. La concentración del control y las muestras del paciente se interpola a partir de la curva de calibrado. Se usa en el equipo gammaglobulina que contiene IgG humana agregada, con la que reacciona el factor reumatoide humano.

K-ASSAY® FR

K-ASSAY® RF debe usarse con el calibrador de FR **K-ASSAY®**. Se usan tres calibradores para preparar una curva de calibrado para medir los niveles de factor reumatoide presentes en la muestra de suero del paciente.

COMPOSICIÓN DEL EQUIPO

Reactivos (estables en líquido)

R1: Reactivo amortiguador 4 x 20 ml
Tris(hidroximetil)aminometano 50 mM
Acida sódica < 0,1 %

R2: Reactivo de FR 2 x 8 ml
IgG humana agregada (desnaturalizada) 0.2%
Tris(hidroximetil)aminometano 100 mM
Acida sódica < 0,1 %

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*. Sólo Rx.

No se usará internamente en el hombre ni en animales. Se adoptarán las precauciones habituales en el manejo de reactivos de laboratorio.

No se debe mezclar ni utilizar reactivos de un equipo de análisis con los de un número de lote distinto.

No se utilizarán los reactivos tras la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de cada recipiente de reactivo.

No debe pipetarse con la boca. Se evitará la ingesta y el contacto con la piel.

Los reactivos de este equipo contienen acida sódica como conservante. La acida sódica puede formar compuestos explosivos en tuberías de drenaje metálicas. Al desechar los controles por las cañerías, se debe dejar correr agua abundante. Para mayor información consulte "Descontaminación de desagües de laboratorio para eliminar las sales de acida," en el Manual Guía-Manejo de seguridad n.° CDC-22 publicado por el Centro de Control de Enfermedades, Atlanta, Georgia.

Este producto contiene una sustancia química considerada como cancerígena en el estado de California, EE. UU. El reactivo R-1 contiene un 2,28% de tiourea (CAS N.° 62-56-6).

Los reactivos contienen suero humano combinado. Cada unidad de donante de suero usada en la preparación de este producto ha sido analizada mediante un método aprobado por la FDA y se consideró que no era reactiva a AgHBs ni a anticuerpo de VIH. Sin embargo, no es posible garantizar que un material de origen humano esté libre de estos agentes infecciosos. Por tanto, todos los productos que contengan suero

humano se manejarán conforme a las normas de buena práctica de laboratorio, adoptando las precauciones oportunas descritas en el Manual CDC/NIH, "Biosseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 2ª ed., 1988, HHS Publicación n.° (CDC) 88-8395.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos están listos para usar y no es necesaria su reconstitución.

CONSERVACIÓN Y MANEJO

Todos los reactivos deben guardarse refrigerados (2-8 °C). Inmediatamente después de su uso, los reactivos deben ponerse a 2-8 °C. Los reactivos no abiertos pueden usarse durante un año desde la fecha de fabricación, como se indica en la fecha de caducidad de las etiquetas de los envases y los frascos.

ESTABILIDAD DEL REACTIVO

Se desecharán los reactivos que puedan haberse contaminado. Los signos de turbidez o partículas en la solución serán motivo suficiente para desecharlos. Si la absorbancia del suero salino isotónico es mayor de 0,050, no debe usarse el reactivo. Si el calibrador que tiene una concentración de factor reumatoide de alrededor de 97 UI/ml no tiene una absorbancia de 0,050 a 0,200 tras sustraer el blanco del reactivo, no se usarán los reactivos.

Los reactivos abiertos pueden usarse durante un mes, si se guardan a 2-8 °C.

INSTRUMENTO

La determinación de la absorbancia se llevará a cabo con un instrumento que pueda leer con exactitud la absorbancia a 340 y 700 nm. Consulte el manual del instrumento del fabricante en relación a los aspectos siguientes:

- Uso o función
- Procedimientos y requisitos de instalación
- Principios de funcionamiento
- Características e instrucciones de funcionamiento
- Procedimientos de calibración, como materiales o equipo que se usarán
- Precauciones de funcionamiento, limitaciones y riesgos
- Información sobre revisiones y mantenimiento

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se recomienda realizar la recogida de muestras conforme al documento M29-T2 del NCCLS. Ningún método puede ofrecer una garantía total de que las muestras de sangre humana no vayan a transmitir una infección. Por tanto, todas las muestras de sangre se considerarán potencialmente infecciosas.

Se necesita suero para este ensayo. Poco después de la extracción de sangre, se dejará coagular, se centrifugará y se separará el suero del coágulo en tubos de plástico antes de 2 horas. Es preferible el suero recién extraído. El suero debe conservarse refrigerado (2-8 °C) y utilizarse antes de una semana. Las muestras también pueden guardarse congeladas a -20 °C y utilizarse antes de 2 meses.

Utilice tubos de plástico para guardar la muestra, en lugar de vidrio.

K-ASSAY® FR

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

Reactivo 1 (R-1) Reactivo amortiguador 4 x 20 ml
Reactivo 2 (R-2) Reactivo FR 2 x 8 ml

Materiales necesarios pero no suministrados

Calibradores: calibrador de FR **K-ASSAY®**, Cat. N.° KAI-032C. (3 calibradores, valores aproximados: 50, 150, 300 U/ml)

Agua purificada

Analizador de química analítica de dos reactivos capaz de lecturas exactas de la absorbancia a 340 y 700 nm, que libera con exactitud los volúmenes necesarios, manteniéndose a 37 °C.

Procedimiento analítico

Ejemplo de aplicación automatizada (Hitachi 717):

Muestra	15 µL
↓	
• ← R1 (reactivo amortiguador)	250 µL
↓	
• ← R2 (reactivo FR)	50 µL
↓	
•	37 °C, 5 min.

criterio de valoración de 2 puntos, 340/700 nm

Nota: deje que los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Mezcle todos los reactivos con suavidad antes de usarlos.

Método automatizado (ejemplo)

Parámetros químicos para el analizador automático

INSTRUMENTO	Hitachi 717
TEMPERATURA	37 °C
PRUEBA	(FR)
CÓDIGO DE ANÁLISIS	(2 PUNTOS): (24) - (50)
VOLUMEN DE MUESTRA	(15) ()
VOLUMEN DE R1	(250) () (NO)
VOLUMEN DE R2	(50) () (NO)
LONGITUD DE ONDA	(700) (340)
MÉTODO DE CALIBRACIÓN	(NO LINEAL) (4) (4)
EST.(1) Conc.-POS.	(0.0) - (1)
EST.(2) Conc.-POS.	(*)2 - (2)
EST.(3) Conc.-POS.	(*)3 - (3)
EST.(4) Conc.-POS.	(*)4 - (4)
EST.(5) Conc.-POS.	(0) - (0)
EST.(6) Conc.-POS.	(0) - (0)
LÍMITE DE	(999)
LÍMITE DUPLICADO	(10000)
LÍMITE DE SENSIBILIDAD	(0)
LÍMITE ABS. (PENDIENTE)	(32000) (AUMENTO)
LÍMITE DE PROZONA	(-32000) (INFERIOR)
VALOR ESPERADO	(-99999) (99999)
VALOR CRÍTICO	(-99999) (99999)
FACTOR DE INSTRUMENTO	(1,00)

* 2-4 Concentración de entrada de los calibradores

Se dispone de los parámetros para otros analizadores automatizados.

CALIBRACIÓN

Para muestras con concentraciones de FR inferiores a 320 UI/ml, se usará una curva de calibrado de múltiples puntos utilizando el calibrador de FR **K-ASSAY**® (Cat. N.º KAI-032C). Se recomienda que el usuario determine la frecuencia de calibración, ya que ésta depende del instrumento y del tipo/número de otros ensayos que se estén realizando. Inicialmente, la calibración debe realizarse todos los días.

CONTROL DE CALIDAD

En cada ensayo realizado deben incluirse controles normales y anómalos de concentración conocida. Estos controles deben estar dentro de los valores indicados asignados a los controles. La validez del ensayo se cuestiona si el valor de los controles generados por la curva de calibración del ensayo no está dentro del intervalo indicado. Si el valor determinado para los controles está fuera del intervalo de recuperación indicado, se debe recalibrar.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El intervalo de determinación para el factor reumatoide oscila entre 5 UI/ml y 320 UI/ml. Las muestras extremadamente lipémicas y muestras con concentraciones muy elevadas de triglicéridos se diluirán 1:2 con suero salino isotónico o se filtrarán para reducir la dispersión de la luz no específica. Si la concentración de factor reumatoide de la muestra de un paciente es superior al valor máximo del calibrador, diluir 1 parte de muestra con 4 partes de suero salino isotónico y volver a analizar. Multiplique los resultados por 5 para compensar la dilución.

RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del **K-ASSAY**® FR se determinó utilizando reactivos envasados, suero humano combinado y un analizador químico Hitachi modelo 717.

Ensayo de precisión:

(Dentro del período de análisis)

<u>Muestra I</u>	<u>Muestra II</u>
N = 20	N = 20
Media = 3,3	Media = 110,15
DE = 0,86	DE = 1,5
CV = 26,197%	CV = 1,359%

Ensayo de precisión:

(Entre análisis)

<u>Muestra I</u>	<u>Muestra II</u>	<u>Muestra III</u>
N = 10	N = 10	N = 10
Media = 7,9	Media = 33	Media = 106,3
DE = 2,13	DE = 1,33	DE = 2,06
CV = 26,98%	CV = 4,04%	CV = 1,94%

Exactitud / Correlación

$y = 0,876x - 20,268$
 $r = 0,984$
 $n = 43$
 $x =$ ITA de compañía A
 $y =$ **K-ASSAY**® FR

Intervalo de ensayo

5 - 320 UI/ml

INTERFERENCIA

Bilirubina F y C	No hay interferencia hasta 20 mg/dl
Hemoglobina	No hay interferencia hasta 500 mg/dl
Lipemia	No hay interferencia hasta 3 %











VALOR ESPERADO

El valor esperado notificado es inferior a 10 U/ml o inferior a 11 U/ml. Cada laboratorio debe establecer sus propios valores esperados utilizando este juego.

BIBLIOGRAFÍA

- Koopman, W.J. and Schrohenloher, R.E., "Rheumatoid factor and human disease." Clinical Immunology Newsletter 1990; 10, 137-41.
- Center for Disease Control, "Reference preparation of rheumatoid factor." Catalog #ISO949, Atlanta, GA, Lot 87-0094.
- Walker, D.J., et al., "Rheumatoid factor tests in the diagnostic and prediction of rheumatoid arthritis," Ann. Rheum. Dis. 1986; 45, 684-690.
- Eberhardt, K.B. et al., "Disease activity and joint damage progression in early rheumatoid arthritis, relation to IgG, IgM, IgA rheumatoid factor." Ann. Rheum. Dis. 990; 49, 906-909.
- Masi, A.T. and Medsger, T.A. "Epidemiology of the rheumatoid disease," Br. J. Rheumatol 1988; 27 (suppl. 1):12-20.
- Klein, F. et al., "Comparative study of test kits for measurement of rheumatoid factor by latex fixation test." Ann. Rheum. Dis 1990; 49, 801-804.
- Bergstrom K. et al. "An automated turbidimetric immunoassay for plasma proteins," Scand. J. Clin. Lab. Invest., 40, 637, 1980.
- Peter, J.B. "Use and interpretation of tests in clinical immunology," Specialty Laboratories, Santa Monica, CA, 8th edition, 1991.
- Killingsworth, L.M. and Savory, J. "Nephelometric studies on the precipitin reactions," J. Clin. Chem. 19:403-407, 1973.
- Stemberg, J.C. "A Rate Nephelometer for Measuring Specific Proteins by Immunoprecipitin Reaction," Clin. Chem., 23:1456-64, 1977.

SÍMBOLOS DE LAS ETIQUETAS

	Número de lote
	Reactivo
	Fecha de caducidad o "usar antes de"
	Número de catálogo
	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Limitación de temperatura Conservar entre 2 y 8 grados C
	Posible riesgo biológico para el ser humano
	Fabricante
	Consulte en el prospecto las instrucciones de uso.
	Representante autorizado en la Comunidad Europea

REPRESENTANTE AUTORIZADO DE LA UE



EC REP

Advena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta

DATOS PATRA PEDIDOS / PRECIOS / INFORMACIÓN TÉCNICA



KAMIYA BIOMEDICAL COMPANY

12779 Gateway Drive
Seattle, WA 98168 USA
TEL: (206) 575-8068 / (800) 526-4925
FAX: (206) 575-8094