

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
 São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
 CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**
 11 2291 2811 ou sac@ebram.com
 www.ebaram.com



REG. MS: 10159820199 / 10159820082

Revisão: Ago/2021

FINALIDADE. Teste em placa por aglutinação de partículas de látex para determinação qualitativa e semi-quantitativa do Fator Reumatóide (FR) no soro humano.

PRINCÍPIO. A artrite reumatóide é uma doença crônica sistêmica de etiologia desconhecida. A doença está amplamente estendida no Brasil e por todo o mundo e é encontrada em todos os grupos de idade. Embora nenhuma cura específica tenha sido encontrada ainda, uma terapia precoce é de grande valor, aumentando ou minimizando irreversivelmente os danos para as articulações. Por esta razão o pronto diagnóstico é de grande importância. Desde a descoberta do Fator Reumatóide tem sido desenvolvidas muitas técnicas para identificar e quantificar estes fatores. Geralmente as técnicas mais úteis tem sido procedimentos de aglutinação empregando partículas de látex de poliestireno aderidas com uma camada de gamaglobulinas humanas absorvidas. O Fator Reumatóide presente nas amostras do teste reagem com o material aderido causando uma visível aglutinação das partículas inertes de látex. Esta é a reação que se baseia o produto FR-LÁTEX EBRAM. O soro teste encontrado positivo para FR desenvolve uma reação imunológica devido a globulina macromolecular reagindo com a correspondente IgG aderida nas partículas de látex de poliestireno.

REAGENTES.

Cód. 901 - Kit completo para 50 a 100 determinações:

FR - Reagente Látex - 1 x 2mL (tampa preta)

Suspensão de partículas de látex de poliestireno aderidas com IgG humana em um tampão de salina-glicina e 0,1% de azida sódica como conservante. A sensibilidade do reativo tem sido ajustada para detectar 8 UI/ml de FR.

Controle Positivo - 1 x 0,5mL (tampa vermelha)

Soro humano estabilizado contendo Fator Reumatóide reativo e 0,1% de azida sódica como conservante.

Controle Negativo - 1 x 0,5mL (tampa branca)

Soro animal estabilizado, não reativo com a IgG aderida às partículas de látex e 0,1% de azida sódica como conservante.

Solução Tampão de Salina-Glicina (20x Concentrada) - Semi-quantitativo. - 1 x 1mL (tampa preta) - Solução tamponada de cloreto de sódio e glicina. A ser diluída 1:20 com água destilada.

Placas de Leitura

Espátula Descartáveis.

Preparo dos Reagentes: O Reagente Látex e os Controles são fornecidos prontos para uso. A Solução Tampão de Salina - Glicina concentrada deve ser diluída antes do uso. Preparar colocando 1,0mL do concentrado em um frasco volumétrico e completar com água destilada até a marca de 20 mL (1:20).

Cód. 911 - Kit (reagente) para 50 a 100 determinações:

FR - Reagente Látex - 1 x 2mL (tampa preta)

Suspensão de partículas de látex de poliestireno aderidas com IgG humana em um tampão de salina-glicina e 0,1% de azida sódica como conservante. A sensibilidade do reativo tem sido ajustada para detectar 8 UI/ml de FR.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS.

- Relógio
- Tubos de ensaio para titulações
- Estantes para tubos de ensaio
- Pipetas sorológicas
- Ponteiros

ARMAZENAMENTO.

- A temperatura de armazenamento deverá ser 2º a 8°C; Evite que o frasco do reagente seja armazenado deitado; Manter ao abrigo da luz e evitar umidade;
- Não congelar;
- Os produtos são estáveis até a data de validade que consta no rótulo do produto.

A Solução Tampão de Salina-Glicina concentrada, após diluição, é estável entre 2 a 8°C até a data de validade exibida no rótulo.

PRECAUÇÕES.

- Usado para diagnóstico "In Vitro".
- Todos os componentes de origem humana apresentaram resultados negativos para antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e HTLV-III. No entanto, devem ser tratados com precaução como potencialmente infecciosos.
- As divisões deverão ser lavadas com pouco detergente e enxaguadas com grande quantidade de água para remover o resíduo completamente.
- O FR Reagente Látex deve estar homogêneo antes do uso. Isto pode ser realizado por inversão cuidadosa do frasco de reagente e esgotado o conteúdo do conta-gotas, antes do uso. Não agitar vigorosamente.
- Os reagentes contêm azida sódica. Este agente é conhecido por reagir com cobre e chumbo dos canos de pia para formar azidas explosivas. Os materiais ao serem dispensados devem ser lavados com grande quantidade de água para prevenir acúmulo de azida.
- O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.
- Seguir exatamente a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- Ler imediatamente após 2 minutos, pois a demora para leitura poderá apresentar resultado falso-positivo.
- O uso do conta-gotas torna o teste menos preciso devido a variação no volume da gota, é indicado o uso de uma pipeta automática para obtenção de resultados mais precisos e confiáveis.

AMOSTRAS. O teste deve ser feito no soro. A amostra pode ser armazenada por até 24 horas entre 2º a 8°C e para períodos mais longos, recomenda-se armazenar as amostras à -20°C.

- Soro com forte lipemia, hemólise ou contaminação bacteriana não devem ser usados para o teste.
- Deve-se utilizar soro e não plasma, pois o fibrinogênio pode causar aglutinação inespecífica.
- Os controles positivo e negativo são usados como controle visual das reações positiva e negativa. Uma granulação muito fraca como o controle negativo pode ser ocasionalmente observada. Isto não é um sinal de que o reagente esteja instável, mas deve ser considerado como um exemplo de reação negativa.

PROCEDIMENTO.**Teste qualitativo**

Importante: Deixar todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes do uso, a sensibilidade da análise diminui a baixas temperaturas.

Esgotar o conteúdo do conta-gotas e agitar o FR Reagente Látex gentilmente; Utilize pipeta automática para obter resultados mais precisos.

1. Colocar 40 µL (uma gota) do FR Reagente Látex em divisões separadas da placa, para as amostras a serem testadas, bem como para os controles positivo e negativo.
2. Adicionar 40 µL de cada amostra não diluída e de cada controle não diluído.
3. Misturar com o bastão descartável, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa. Utilizar bastões diferentes para cada amostra.
4. Agitar a placa com suave movimento de rotação manualmente ou em agitador automático a 100 rpm durante 2 minutos, e observar a aglutinação sob luz incidente.
5. Marcar os resultados.

OBS.: Para a realização de 100 testes com este kit, o volume adicionado da amostra/controles e reagente é de 0,020mL (20µL). Após o uso, a placa deverá ser lavada com água destilada, se isto não for efetuado imediatamente, usar água com detergente neutro e enxaguar abundantemente com água destilada ou deionizada. Resíduo de detergente pode provocar resultados falso-positivo.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.

Qualitativo: Examinar macroscopicamente a presença ou ausência de aglutinação logo após 2 minutos. Uma distinta aglutinação indica um conteúdo de FR maior que 10 UI/mL na amostra não diluída. O soro com resultado positivo no teste qualitativo pode ser retestado usando o procedimento semi-quantitativo.



Teste semi-quantitativo:

NOTA: Preparar a Solução Tampão de Salina-Glicina concentrada a 1:20 (1 mL de Tampão Concentrado + 19 mL de água destilada) ou utilizar NaCl 150 mmol/L 0,85%.

6. Diluir o soro em tubos, conforme esquema abaixo. Diluições adicionais podem ser preparadas caso o resultado seja positivo até a diluição 1/64. Separar 6 tubos e adicionar 0,2mL da solução Tampão de Salina-Glicina (já diluída) em cada tubo. Transferir para o 1º tubo 0,2mL da amostra. Misturar, transferir 0,2mL do 1º tubo para o 2º tubo, misturar e transferir 0,2mL do 2º para o 3º tubo e assim sucessivamente até o 6º tubo desprezando 0,2mL restantes.

TUBO	1	2	3	4	5	6
Solução Tampão (diluída) mL	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Soro mL	0,2	-	-	-	-	-
Misturar e Transferir mL	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Diluição	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
UI/mL	20	40	80	160	320	640

7. Pipetar 40 µL de cada tubo e adicionar nas divisões da placa.
8. Adicionar uma gota (40 µL) do reagente látex sobre cada uma das divisões.
9. Misturar com o bastão descartável, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa.
10. Agitar a placa com suave movimento de rotação manual ou em agitador automático a 100 rpm durante 2 minutos e observar a aglutinação sob luz incidente.
11. Marcar os resultados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.

Semi-Quantitativo: O título de cada amostra do teste deve ser considerado como o da mais alta diluição em que se observa aglutinação. Um soro fracamente reativo produz uma fina granulação ou grumos parciais. A faixa aproximada de FR presente na amostra pode ser obtida multiplicando-se o limite de sensibilidade (8 UI/mL) pelo título obtido.

CONTROLE DE QUALIDADE. Para cada série de testes devem ser fazer controles positivo e negativo para verificar a correta execução da técnica e o estado de conservação dos reagentes.

VALORES DE REFERÊNCIA.

Até 8 UI/mL
Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.
O significado clínico da determinação de FR consiste na diferenciação entre Artrite Reumatóide, em que fator reumatóide tem sido demonstrado no soro em aproximadamente 80% dos casos examinados e Febre Reumática, em que o fator reumatóide é quase sempre ausente. O Fator Reumatóide é ocasionalmente encontrado no soro de pacientes com poliartrite nodosa, lupus eritematoso sistêmico e uma variedade de doenças inflamatórias crônicas tais como tuberculose, lepra, sífilis e endocardite bacteriana.
Aproximadamente 3,5% de pacientes reumatóides conhecidos não reagem no teste qualitativo. Adicionalmente, 2% de soros originários de indivíduos saudáveis deram reações positivas no teste qualitativo.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Podem aparecer falsas negatividades em outras doenças distintas da febre reumática e da glomerulonefrite, como a artrite reumatóide, escarlatina, amigdalite e infecções estreptocócicas diversas.

- Podem aparecer falsas negatividades, em infecções precoces e em crianças com idades compreendidas entre 6 meses e 2 anos.
 - Devido a uma única determinação não dar informação suficiente sobre o estado atual da doença, recomenda-se nos casos duvidosos e com o propósito de seguir a evolução da doença, repetir o teste em intervalos quinzenais durante 4 ou 6 semanas.
 - A sensibilidade do teste diminui em temperaturas baixas. Recomenda-se trabalhar acima dos 10°C.
 - Atras nas leituras podem ocasionar uma supervalorização da faixa de Anti-Estreptolisina.
 - As reações devem ser lidas logo após 2 minutos da adição da amostra de soro. Reações por mais tempo podem causar resultados falsos devido efeitos de secagem.
- Obs: Não se observa efeito prozona, pelo menos, até 800 UI/mL.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO.

- A sensibilidade do teste diminui a temperaturas baixas. Recomenda-se trabalhar entre 18 -25°C
- A intensidade da aglutinação não é indicativa da concentração de FR nas amostras testadas.
- Se a concentração de FR no soro for muito elevada (> 1500 IU/mL), podem aparecer resultado falso negativo (efeito prozona). Recomenda-se repetir o teste diluindo a amostra.
- As reações devem ser lidas logo após 2 minutos da adição da amostra de soro. Reações por mais tempo podem causar resultados falsos devido efeitos de secagem.
- A incidência de resultados falso-positivos é de cerca de 3-5%. Indivíduos que sofrem de mononucleose infecciosa, hepatite, sífilis, inclusive idosos podem apresentar resultados falso positivos.
- O diagnóstico não deve ser baseado apenas nos resultados do método de látex, mas também deve ser complementado com a Waaler Rose ou Turbidimetria junto com o exame clínico. Diferenças nos resultados entre os métodos não refletem diferenças na capacidade de detectar fatores reumatóides.

GARANTIA DE QUALIDADE. Este produto é garantido pela Ebram Produtos Laboratoriais Ltda se conservado na temperatura recomendada, utilizado durante o prazo de validade e seguindo recomendações do rótulo e dessa instrução de uso.

REFERÊNCIAS.

- Waaler, e., aCTA pTA, mICOB. sCAND. 17, 18:2, 1940.
- Rosa, H.M., Ragan, C., Pierce, E. Lipman, M.o., Proc. Soc. Exphl. Viol.Med., 68, 1, 1948
- Waller, M., C.R.C., Rewies in Medical Sci, June. 1971, P.173.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		
CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	REAGENTE	FABRICADO POR
O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	LOTE NÚMERO DO LOTE
LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	REF NÚMERO DO CATALOGO
CONTROLE CONTROLE NEGATIVO	CONTROLE POSITIVO	