

Nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão (POP) FR LÁTEX	Página 1 de 5 POP xxx Revisão: 001
----------------------------	-----------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------

FR LÁTEX

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.

REAGENTE UTILIZADO-APRESENTAÇÃO

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 30 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.**

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 30 UI/ml de FR.

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).

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

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

Nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão (POP) FR LÁTEX	Página 2 de 5 POP xxx Revisão: 001
----------------------------	-----------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------

ARMAZENAMENTO

- A temperatura de armazenamento deverá ser entre 2º a 8ºC.
- 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 8º 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 anticorpo anti-HCV, antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e anti-HIV. 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. Se a amostra de soro não for imediatamente testada após coleta, armazenar por até 2 dias entre 2º a 8º C.
- Soros 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 com 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 os controles positivos e negativos.
- 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 aglutinação sob luz incidente.

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.

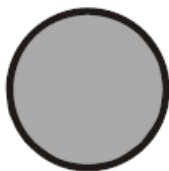
Nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão (POP) FR LÁTEX	Página 3 de 5 POP xxx Revisão: 001
----------------------------	-----------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------

Uma distinta aglutinação indica um conteúdo de FR maior que 30 UI/mL na amostra não diluída. O soro com resultado positivo no teste qualitativo pode ser retestado usando o procedimento semi-quantitativo.

POSITIVO
HÁ AGLUTINAÇÃO



NEGATIVO
NÃO HÁ AGLUTINAÇÃO



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%.

1 - 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	16	32	64	128	256	512

2 - Pipetar 40 µl de cada tubo e adicionar nas divisões da placa.

3 - Adicionar uma gota (40 µl) do reagente látex sobre cada uma das divisões.

4 - Misturar com o bastão descartável, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa.

5 - 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

6 - 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. A diluição do soro na solução salina causa uma mudança de sensibilidade na prova de 30UI/mL para 8 UI/mL devido o forte efeito matriz da amostra na aglutinação do látex.

CONTROLE DE QUALIDADE

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

VALORES DE REFERÊNCIA

Até 30 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.

Nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão (POP) FR LÁTEX	Página 4 de 5 POP xxx Revisão: 001
----------------------------	-----------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------

Adicionalmente, 2% de soros originários de indivíduos saudáveis deram reações positivas no teste qualitativo.

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 (> 800 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.
- Hemoglobina >10g/L, Bilirrubina > 20mg/dL e Lípidios >10g/L podem interferir na reação.

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.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- A sensibilidade do teste diminui a temperaturas baixas. Recomenda-se trabalhar acima dos 10°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, pode aparecer resultado falso negativo (efeito pró-zona). Recomenda-se repetir o teste diluindo a amostra ou utilizando 10 µL de amostras.
- 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, bem como os idosos podem apresentar resultados positivos.
- O diagnóstico não deve ser baseado apenas nos resultados do método de látex, mas também deve ser complementado com a Rose Waaler ou Turbidimetria junto com o exame clínico.
- Os resultados obtidos com um método de látex não se comparam com aqueles obtidos com ensaio Waaler Rose ou Turbidimetria. Diferenças nos resultados entre os métodos não refletem diferenças na capacidade de detectar fatores reumatóides.

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.

INFORMAÇÕES DO FABRICANTE

Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.
Rua Júlio de Castilhos nº 500 – Belenzinho
São Paulo – SP – CEP 03059-001
Indústria Brasileira
® Marca Registrada
CNPJ: 50.657.402/0001-31
Resp. Téc.: Dra. Nadjara Novaes Longen
CRF-SP.:37.451
Nº Reg. MS: 10159820082
Departamento de Assistência ao Cliente
Telefone: (0**11) 2291-2811
E-mail: sac@ebram.com
www.ebram.com

Nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão (POP) FR LÁTEX	Página 5 de 5 POP xxx Revisão: 001
---------------------	----------------------------------------------------------	------------------------------------------

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por:			_/_/_
Aprovado por:			_/_/_
Implantado por:			_/_/_
Substitui POP:			
Revisado por:			_/_/_
Revisado por:			_/_/_
Revisado por:			_/_/_
Desativado por:			_/_/_
Razão:			

	Número	Destino
Cópias		

Ebram Produtos Laboratoriais
POP FR Látex
 Revisão: Março/19