



Artritest

directo

Prueba en placa para el diagnóstico de artritis reumatoidea

SIGNIFICACION CLINICA

La artritis reumatoidea es un síndrome crónico de etiología desconocida, caracterizado por una inflamación inespecífica y generalmente simétrica de las articulaciones, que a veces evoluciona hacia la destrucción de las estructuras articulares y periarticulares.

En la articulación enferma se observa un engrosamiento de la membrana sinovial con formación de pliegues y proliferación de linfocitos. Estas células, que forman folículos linfoides, son las responsables de la síntesis de factores reumatoideos (FR) y otras inmunoglobulinas.

Los FR son generalmente de tipo IgM anti-IgG, es decir que reaccionan con las fracciones Fc de las IgG. También se han encontrado FR de tipo IgG, aunque en mucho menor proporción de casos.

Los FR de tipo IgM están presentes en el 85-90% de los adultos con artritis reumatoidea aunque no es específico de la enfermedad puesto que también se han encontrado en individuos sanos (en un 3 a 5% de los casos).

Por tal motivo, cuando se sospecha la existencia de una enfermedad distinta de la artritis reumatoidea, frente a una reacción de aglutinación positiva es aconsejable realizar la precipitación de las globulinas con sulfato de amonio. De tal forma, se asegura la precipitación completa de los FR y se mantiene en solución cualquier aglutinina responsable de una falsa reacción positiva, como así también algún posible inhibidor.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El factor reumatoideo de tipo IgM se detecta en presencia de gamma-inmunoglobulina o fracción II de Cohn (que en este caso es el antígeno) adsorbida sobre un soporte inerte de látex-poliestireno. Este antígeno se une a los FR (anti-IgG) produciendo una aglutinación de las partículas de látex-poliestireno, visible macroscópicamente.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: suspensión de partículas de látex poliestireno de 0,20 micrones de diámetro, que tienen adsorbidas moléculas termoagregadas de gamma-inmunoglobulina o fracción II de Cohn.

Control Positivo: dilución de suero humano positivo. Equivale a 2(+).

Control Negativo: dilución de suero humano negativo.

REACTIVO NO PROVISTO

- **Reactivo Precipitante** (para el ensayo de la fracción globulínica): sulfato de amonio 211,5 g/l en CINA 5,15 g/l.
- Solución fisiológica.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: agitar bien antes de usar, vaciando previamente la pipeta del gotero.

Controles (Positivo y Negativo): listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Los controles han sido ensayados para HIV, HCV y HBV encontrándose inactivos. No obstante, deben ser empleados como si se tratara de material infectivo.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La autoaglutinación del Reactivo A es indicio de deterioro del mismo, en tal caso desechar.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: obtener suero de la manera usual. No deben usarse muestras inactivadas por calor.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: hemólisis y ciertas proteínas (distintas del factor reumatoideo) pueden ser causa de resultados erróneos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento puede conservarse en el refrigerador (2-10°C) durante no más de una semana contada desde su recolección.

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- placas de plástico o vidrio fondo negro.

2- No provisto

- Palillo o varilla de vidrio.

- Cronómetro.

- Material volumétrico adecuado.

- Fuente de luz.

PROCEDIMIENTO

Llevar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente antes de usar.

I- TECNICA CUALITATIVA

En uno de los sectores delimitados de la placa adjunta al equipo, colocar:

Muestra	1 gota (50 ul)
----------------	----------------

Reactivo A	1 gota (50 ul)
-------------------	----------------

Mezclar con palillo o varilla de vidrio hasta obtener una suspensión uniforme en toda la superficie delimitada de la placa. Inmediatamente, disparar un cronómetro, balancear suavemente la placa y observar macroscópicamente el resultado dentro de los dos minutos bajo un haz luminoso.

II- TECNICA SEMICUANTITATIVA

Los sueros positivos pueden titularse efectuando diluciones seriadas, en 6 tubos de Kahn.

1) Colocar 0,4 ml de solución fisiológica al primer tubo y 0,2 ml de solución fisiológica a los 5 restantes.

2) Agregar 0,1 ml (100 ul) de suero al tubo N° 1 y mezclar. Transferir 0,2 ml de esta dilución al tubo N° 2 y mezclar, continuando de esta forma las diluciones hasta el último tubo.

Las diluciones así obtenidas equivalen a 1:5; 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160.

3) Ensayar cada dilución según la Técnica Cualitativa.

III- ENSAYO DE LA FRACCION GLOBULINICA

En un tubo de centrifuga colocar:

Muestra (suero sin diluir)	1 ml
-----------------------------------	------

Gota a gota y agitando suavemente, agregar:

Reactivo Precipitante	3,3 ml
------------------------------	--------

Mezclar por inversión, dejar al menos 30 minutos (preferiblemente en heladera) y centrifugar. Volcar el sobrenadante, dejando el tubo invertido sobre papel de filtro hasta escurrimiento completo y luego agregar:

Solución fisiológica	1 ml
-----------------------------	------

Disolver el precipitado. Esta solución de globulina tiene el volumen original del suero y para su ensayo debe procesarse al igual que la Muestra según la Técnica Cualitativa.

Técnica semicuantitativa (titulación)

Título: inversa de la máxima dilución a la que se produce aglutinación visible macroscópicamente.

La concentración aproximada de factor reumatoideo en la muestra puede ser calculada por la fórmula siguiente:

$FR (UI/ml) = \text{Título} \times \text{Sensibilidad de la reacción} (1 UI/ml)$

Ejemplo: la muestra presenta un título de 1:40. Su concentración en FR es de $40 \times 1 = 40 UI/ml$.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar simultáneamente el Control Negativo y el Control Positivo provistos, empleando una gota del Control correspondiente en lugar de la Muestra.

VALORES DE REFERENCIA

No están claramente establecidos. Se consideran patológicos valores superiores a 20-30 UI/ml.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

PERFORMANCE

a) Sensibilidad analítica: calibrado frente al Standard del CDC, se encuentra una sensibilidad de 1 UI/ml.

En un estudio realizado sobre 176 muestras provenientes de una población hospitalaria se compararon los resultados con un método turbidimétrico cuantitativo, obteniéndose una sensibilidad del 100%.

En otro estudio realizado sobre una población de 33 muestras de pacientes con historia clínica de artritis reumatoidea, se obtuvieron 29 muestras reactivas. Se concluye que el 88% de los pacientes con artritis reumatoidea son FR positivos.

b) Especificidad: en un estudio realizado sobre 75 muestras provenientes de 50 hombres y 26 mujeres con edades entre 18 y 47 años, sin síntomas aparentes de enfermedad reumática, se encontraron 72 muestras no reactivas. Por lo tanto, se concluye que el 4% de esta población sana es FR positiva, siendo la especificidad del 96%.

PRESENTACION

Equipo para 50 determinaciones (Cód. 1103152).

BIBLIOGRAFIA

- Singer, J.M. and Plotz, C.M. - Am. J. Clin. Path. 28/611 (1957).
- Singer, J. M. et al. - Am. J. Clin. Path. 72/4:597 (1979).
- Brooks, G. W. and Cobb, S. - Arthritis and Rheumatism 6/3:198 (1963).
- Plotz, C M. and Singer, J.M. - Annual Meeting of the American Rheumatism Association, Chicago (1956).
- Oreskes, I.; Singer, J.M. and Plotz, C.M. - J. Immunology 90:107 (1963).
- Young, D. S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Técnica cualitativa

Negativo: suspensión homogénea.

Positivo: aglutinación que aparece dentro de los dos minutos. Se califica de 1 a 4 (+), siendo:

4+: aglutinación franca

3+: moderada aglutinación

2+: ligera aglutinación

1+: aglutinación débil



Artritest

directo

Prova em placa para o diagnóstico de artrite reumatóide

SIGNIFICADO CLÍNICO

A artrite reumatóide, é um síndrome crônico de etiologia desconhecida, que se caracteriza por uma inflamação não específica e geralmente simétrica das articulações, que as vezes evolui até a destruição das estruturas articulares e periarticulares.

Na articulação afetada se observa um aumento da membrana sinovial com formação de pregas e proliferações de linfócitos. Estas células, que formam folículos linfoides, são as responsáveis da sínteses de fatores reumatóides (FR) e outras imunoglobulinas.

Os FR são geralmente do tipo IgM anti-IgG, o que quer dizer que reagem com as frações Fc das IgG. Também foi encontrado FR do tipo IgG, em menor quantidade de casos. Os FR do tipo IgM estão presente no 85-90% dos adultos com artrite reumatóide, não sendo específico da doença, posto que também encontra-se em indivíduos saudáveis (no 3 ao 5% dos casos).

Quando se suspeita a existência de uma doença diferente à artrite reumatóide, e com reação de aglutinação positiva é aconselhável realizar a precipitação das globulinas com sulfato de amônio. Assim, se assegura a precipitação completa dos FR e se mantém em solução qualquer aglutinina responsável de uma reação positiva falsa, como também algum possível inibidor.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O fator reumatóide do tipo IgM é detectável na presença de gamma-imunoglobulina o fração II de Cohn (sendo neste caso o antígeno) adsorvida sobre um suporte inerte de látex-poliestireno. O antígeno se une aos FR (anti-IgG) produzindo uma aglutinação das partículas de látex-poliestireno, visível macroscopicamente.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: suspensão de partículas de látex poliestireno de 0,20 microns de diâmetro, que têm adsorvidas moléculas termoagregadas de gamma-imunoglobulina ou fração II de Cohn.

Controle Positivo: diluição de soro humano positivo. Equivale a 2 (+).

Controle Negativo: diluição de soro humano negativo.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- **Reagente Precipitante** (para o ensaio da fração globulinica): sulfato de amônio 211,5 g/l em CNa 5,15 g/l.
- Solução fisiológica.

INSTRUÇÕES PARA USO

Reagente A: agitar bem antes de usar, esvaziando antes de pipetar do conta-gotas.

Controles Positivo e Negativo: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Os controles foram testados para HIV, HCV e HBV encontrando-se inativos. Os mesmos devem ser utilizados como se tratando de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicado na embalagem. Não congelar.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

A autoaglutinação do Reagente A é indicio de deterioração do mesmo. Descartá-lo.

AMOSTRA

Soro

a) Coleta: obter soro da maneira usual. Não devem ser utilizadas amostras inativadas pelo calor.

b) Aditivos: não são necessários.

c) Substâncias interferentes conhecidas: hemólise e algumas proteínas (diferentes do fator reumatóide) podem ser causa de valores errôneos.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: o soro deve ser preferencialmente fresco. De não ser processado no momento, pode ser conservado sob refrigeração (2-10°C) durante não mais de uma semana a contar de sua obtenção.

MATERIAL NECESSÁRIO

1- Fornecido

- placas de plástico ou vidro com fundo preto

2- Não fornecido

- Palito ou vara de vidro.
- Cronômetro.
- Material volumétrico adequado.
- Fonte de luz.

PROCEDIMENTO

Deixar os reagentes e as amostras a temperatura ambiente antes de utilizar.

I- TÉCNICA QUALITATIVA

Em um dos setores delimitados da placa fornecida colocar:

Amostra	1 gota (50 ul)
----------------	----------------

Reagente A	1 gota (50 ul)
-------------------	----------------

Misturar com o palito ou vara de vidro até obter uma suspensão uniforme em toda a superfície delimitada da placa. Imediatamente disparar o cronômetro, mexer suavemente a placa e observar macroscopicamente o resultado dentro dos 2 minutos posteriores por baixo da lâmpada.

II- TÉCNICA SEMI-QUANTITATIVA

Os soros positivos podem titular-se realizando diluições em série, em 6 tubos de Kahn.

1) Colocar 0,4 ml de solução fisiológica no primeiro tubo e 0,2 ml de solução fisiológica aos 5 restantes.

2) Adicionar 0,1 ml (100 ul) de soro no tubo Nº 1 e misturar. Passar 0,2 ml da diluição anterior ao tubo Nº 2 e misturar. Realizar as diluições da forma anterior até chegar ao tubo Nº 6.

As diluições assim obtidas são equivalentes a 1:5; 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160.

3) Ensaiar cada diluição segundo a Técnica Qualitativa.

III- ENSAIO DA FRAÇÃO GLOBULINICA

Em um tubo de centrífuga colocar:

Amostra (soro sem diluir)	1 ml
----------------------------------	------

Gota por gota e agitando suavemente, adicionar:

Reagente Precipitante	3,3 ml
------------------------------	--------

Misturar por inversão, deixar 30 minutos (é conveniente sob refrigeração) e centrifugar. Desprezar o sobrenadante e deixar o tubo invertido sobre papel absorvente até escoamento total e logo após adicionar:

Solução fisiológica	1 ml
----------------------------	------

Dissolver o precipitado. A solução de globulina tem o volume original do soro e para seu ensaio deve ser processado ao igual que a Amostra segundo a Técnica Qualitativa.

Técnica semi-quantitativa (titulação)

Título: inversa da máxima diluição à que se produz aglutinação visível macroscopicamente.

A concentração aproximada do fator reumatóide na amostra pode se calcular com a seguinte fórmula:

$FR (UI/ml) = \text{Título} \times \text{Sensibilidade de reação} (1 UI/ml)$

Exemplo: a amostra apresenta um título de 1:40. A concentração de FR é de $40 \times 1 = 40 UI/ml$.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar simultaneamente o Controle Negativo e o Controle Positivo fornecidos, utilizando uma gota do Controle correspondente no lugar da Amostra.

VALORES DE REFERÊNCIA

Não foram estabelecidos com clareza, sendo considerados patológicos os valores superiores a 20-30 UI/ml.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

DESEMPENHO

a) Sensibilidade analítica: calibrado com o Padrão do CDC, encontra-se uma sensibilidade de 1 UI/ml.

Em estudo realizado de 176 amostras provenientes de uma população hospitalar, compararam-se os resultados com um método turbidimétrico quantitativo, obtendo-se uma sensibilidade de 100%.

Em outro estudo realizado sob uma população de 33 pacientes com história clínica de artrite reumatóide, obtiveram-se 29 amostras reativas. Conclui-se que 88% dos pacientes com artrite reumatóide são FR positivos.

b) Especificidade: em estudo realizado de 75 amostras provenientes de 50 homens e 26 mulheres com idades entre 18 e 47 anos, sem sintomas aparentes de doença reumática, encontraram-se 72 amostras não reativas. Portanto conclui-se que o 4 % dos indivíduos sadios são FR positivos, sendo a especificidade do 96%.

APRESENTAÇÃO

Kit para 50 determinações (Cód. 1103152).

REFERÊNCIA

- Singer, J.M. and Plotz, C. - Am. J. Clin. Path. 28/611 (1957).
- Singer, J.M. et al. - Am. J. Clin. Path. 72/4:597 (1979).
- Brooks, G.W. and Cobb, S. - Arthritis and Rheumatism 6/3:198 (1963).
- Plotz, C.M. and Singer, J.M. - Annual Meeting of the American Rheumatism Association, Chicago (1956).
- Oreskes, I.; Singer, J.M. and Plotz, C.M. - J. Immunology 90:107 (1963).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4th ed., 2001.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Técnica qualitativa

Negativo: suspensão homogênea.

Positivo: aglutinação que aparece dentro dos dois minutos.

É qualificada de 1 à 4 (+), sendo:

4+: aglutinação bem visível

3+: aglutinação moderada

2+: aglutinação ligeira

1+: aglutinação fraca



Artritest

directo

Slide test for the diagnosis of rheumatoid arthritis

SUMMARY

Rheumatoid arthritis is a chronic syndrome of unknown etiology, characterized by an unspecific and generally symmetrical inflammation of the joint, which sometimes evolves towards the destruction of the joint and periarticular structures.

The affected joint undergoes a thickening of the synovial membrane with the formation of pleats and lymphocytes proliferation.

These cells, which form lymphoid follicles, are responsible for the Rheumatoid Factor (RF) and other immunoglobulins. RF is generally, IgM anti-IgG class. They react with IgG Fc fractions. RF of IgG class have also been found, but in a lesser proportion of cases. RF class are present in 85-90 % of adults suffering from rheumatoid arthritis. However, they are not specific of rheumatoid arthritis. They have also been found in 3-5% healthy individuals.

For this reason, when diseases other than rheumatoid arthritis are suspected, and there is a positive agglutination reaction, it is advisable to perform globulins precipitation with ammonium sulfate. In this manner, RF is thoroughly precipitated and are kept in solution any agglutinin, responsible for a false positive reaction, as well as any possible inhibitor.

PRINCIPLE

The IgM class rheumatoid factor is detected in presence of gamma-immunoglobulin or Cohn's fraction II (in this case the antigen) adsorbed onto an inert latex polystyrene support. This antigen binds to RF (anti-IgG), producing latex polystyrene particles agglutination, macroscopically visible.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: suspension of 0.20 microns latex polystyrene particles, which have thermoaggregated molecules of gamma-immunoglobulin or Cohn's fraction II adsorbed.

Positive Control: positive human serum dilution. Equivalent to 2 (+).

Negative Control: negative human serum dilution.

NON-PROVIDED REAGENTS

-Precipitating Reagent (for the globulin fraction assay):
211.5 g/l ammonium sulfate in 5.15 g/l sodium chloride.
- Saline Solution

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent A: before use, shake well to homogenize, emptying the dropper pipette first.

Positive Control: ready to use.

Negative Control: ready to use.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

The controls have been tested and found non-reactive to HIV, HCV and HBV. However, they should be handled as infectious material.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: are stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Do not freeze.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Self agglutination of Reagent A is a sign of its deterioration; in that case, discard.

SAMPLE

Serum

a) Collection: obtain serum in the usual way. Do not use heat-inactivated samples.

b) Additives: not required.

c) Known interfering substances: hemolysis and certain proteins (other than the rheumatoid factor) may cause erroneous results. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: serum should be preferably fresh. If it cannot be processed immediately, it can be kept at 2-10°C no longer than a week from its collection.

REQUIRED MATERIAL

1- Provided

- plastic or glass slides with black background.

2- Non-provided

- Wood or glass rods.
- Stopwatch.
- Adequate volumetric material.
- Light source.

PROCEDURE

Bring the reagents and samples to room temperature before use.

I- QUALITATIVE TECHNIQUE

In one of the circles of the provided slide, place:

Sample (50 ul)	1 drop
Reagent A (50 ul)	1 drop
Mix with a wood or glass rod to obtain a uniform suspension all over the circle surface, and immediately start the stopwatch. Gently move the slide and observe the result macroscopically under a light source, during 2 minutes.	
II- SEMI-QUANTITATIVE TECHNIQUE	
Positive sera can be titrated performing serial dilutions, in 6 Kahn tubes.	
1) Place 0.4 ml saline solution in tube N° 1 and 0.2 ml saline solution in the other 5 ones.	
2) Add 0.1 ml (100 ul) serum to tube N° 1 and mix. Transfer 0.2 ml of this dilution to tube N° 2 and mix, continuing with the dilutions in this manner up to the last tube.	
The obtained dilutions are 1:5; 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160.	
3) Test each dilution following the Qualitative Technique.	
III- GLOBULIN FRACTION ASSAY	
In a centrifuge tube place:	
Sample (non-diluted serum)	1 ml
Then add, drop by drop, gently shaking:	
Precipitating Reagent	3.3 ml
Mix by inversion, let stand at least 30 minutes (preferably at 2-10°C) and centrifuge. Discard the supernatant, leave the tube inverted on filter paper to drain liquid completely. Then add:	
Saline Solution	1 ml
Dissolve the precipitate. This globulin solution has the original serum volume and it has to be tested as a sample following the Qualitative Technique.	

INTERPRETATION OF RESULTS

Qualitative technique

Negative: homogeneous suspension.

Positive: agglutination that appears within 2 minutes. It is qualified from 1 to 4 (+):

4+: strong agglutination

3+: moderate agglutination

2+: mild agglutination

1+: slight agglutination

Semi-quantitative technique (titration)

Titer: is the inverse of the highest dilution showing a macroscopically visible agglutination.

The approximate rheumatoid factor concentration of the sample can be calculated with the following formula:

$$RF \text{ (IU/ml)} = \text{Titer} \times \text{Reaction sensitivity (1 IU/ml)}$$

E.g.: the sample has a 1:40 titer. Its RF concentration is 40 x 1 = 40 IU/ml.

QUALITY CONTROL METHOD

Simultaneously process the provided Negative and Positive Control using a drop of the corresponding Control instead of the sample.

REFERENCE VALUES

They have not been clearly established. Values above 20-30 IU/ml are considered pathological.

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

PERFORMANCE

a) Analytic sensitivity: calibrated against the CDC Standard, a sensitivity of 1 IU/ml is obtained.

In a study performed over 176 samples from a hospitalized population, the results were compared with a quantitative turbidimetric method, obtaining a sensitivity of 100%.

In another study performed on a population of 33 samples from patients with a medical record of rheumatoid arthritis, 29 reactive samples were obtained. It was concluded that 88% of patients with rheumatoid arthritis are RF positive.

b) Specificity: in a study performed over 75 samples from 50 men and 26 women aged between 18 and 47 years old, without evident symptoms of rheumatic disease, 72 non-reactive samples were obtained. Therefore, it was concluded that 4% of healthy individuals are RF positive and the specificity was 96%.

WIENER LAB. PROVIDES

Kits for 50 tests (Cat. N° 1103152).

REFERENCES

- Singer, J.M. et al - Am.J.Clin.Path. 71/4:597 (1979).
- Brooks, G.W. and Cobb, S. - Arthritis and Rheumatism 6/3:198(1963).
- Plotz, C.M. & Singer, J.M.- "The Latex Fixation test in Rheumatoid Arthritis". Annual Meeting of the American Rheumatism Association, Chicago (1956).
- Oreskes, I.; Singer, J.M. & Plotz, C.M.-J. Immunology 90:107 (1963).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.



Artritest

directo

Test do diagnostyki reumatoidalnego zapalenia
stawów na płytkach

Nr kat. 1103152

WSTĘP

Reumatoidalne zapalenie stawów jest przewlekłym zespołem chorobowym o nieznanym etiologii, charakteryzującym się niespecyficznym symetrycznym zapaleniem stawów, które czasami rozwija się w kierunku uszkodzenia stawów i struktur okołostawowych. Wówczas dochodzi do pogrubienia błony maziowej zajętego stawu oraz tworzenia się fałdów i nacieku limfocytarnego. Limfocyty, które tworzą pęcherzyki limfoidalne, są odpowiedzialne za tzw. czynnik reumatoidalny RF (Rheumatoid Factor) i inne immunoglobuliny. RF to głównie immunoglobuliny w klasie IgM przeciwko IgG. Łączą się z fragmentem Fc immunoglobulin G. RF klasy IgG również jest obecny jednak w znacznie mniejszej ilości przypadków. RF klasy IgM jest obecny u 85-90% dorosłych chorych na reumatoidalne zapalenie stawów ale nie są specyficzne dla tej choroby ponieważ występują u 3-5% osób zdrowych. Z tego powodu jeśli istnieje podejrzenie innych chorób niż reumatoidalne zapalenie stawów a wynik badania jest dodatni należy przeprowadzić test z wytrąceniem siarczanu amonu. W ten sposób zapewniamy całkowite wytrącenie czynnika reumatoidalnego i nie może zachodzić żadna reakcja odpowiedzialna za fałszywie dodatnie wyniki, ponadto dochodzi do całkowitej eliminacji inhibitorów w roztworze.

ZASADA DZIAŁANIA

Czynnik reumatoidalny klasy IgM jest oznaczany w obecności gammaimmunoglobulin lub frakcji II Crohna (w tym przypadku antygen) zaadsorbowanej na obojętnym podłożu polistyrenowego lateksu. Ten antygen wiąże czynnik RF (anty-IgG) powodując widoczną makroskopowo aglutynację cząsteczek lateksu polistyrenowego.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: zawiesina cząsteczek lateksu polistyrenowego o wielkości 0,20 mikrona na których w procesie termoagregacji zostały zaadsorbowane cząsteczki gammaimmunoglobuliny lub frakcji II Crohna.

Próba kontrolna dodatnia: roztwór dodatniej surowicy ludzkiej odpowiadającej agregacji 2 (+).

Próba kontrolna ujemna: roztwór ujemnej surowicy ludzkiej.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- **Odczynnik precypitujący** (do oznaczania frakcji globulin): 211,5 g/l roztworu siarczanu amonu w 5,15 g/l chlorku sodu.
- Roztwór soli fizjologicznej.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynnik A: dobrze wstrząsnąć przed użyciem, uprzednio opróżniając kropłomierz pipety.

Próba dodatnia i ujemna: gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki wyłącznie do użycia w diagnostyce in vitro. Próba kontrolna dodatnia i ujemna zostały przebadane i znaleziono niereagujący na HIV, HCV i HBV. Jednakże powinny być traktowane jako materiał zakaźny. Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki: stabilne w lodówce w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Samoaglutynacja Odczynnika lateksowego jest oznaką pogorszenia jakości. W takim przypadku nie należy używać odczynnika.

MATERIAŁ BADANY

Surowica

a) Pobranie: pobrać surowicę w klasyczny sposób. Nie stosować materiału inaktywowanego ciepłem.

b) Substancje dodatkowe: nie wymagane.

c) Znane interakcje: hemoliza i niektóre białka (inne niż czynnik reumatoidalny) mogą spowodować błędne wyniki. Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: surowica do badania powinna być świeża. Jeżeli nie może zostać poddana testowi natychmiast po pobraniu, może być przechowywana w lodówce w temperaturze 2-10°C nie dłużej niż tydzień po pobraniu.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT

1- Dostarczane

- płytka plastikowa lub szklana z ciemnym tłem

2- Niedostarczane

- drewniane lub szklane pałeczki

- stoper

- sprzęt do odmierzenia niezbędnych objętości
- lampa

PROCEDURA

Sprawdzić odczynniki i materiał badany do temperatury pokojowej przed użyciem.

I- METODA JAKOŚCIOWA

Na jednym z kół dostarczonej płytki szklanej umieścić:

Materiał	1 kropla (50 ul)
-----------------	------------------

Odczynnik A	1 kropla (50 ul)
--------------------	------------------

Zamieszać pałeczką drewnianą lub szklaną aby otrzymać jednolitą zawiesinę na całej powierzchni koła i natychmiast włączyć stoper. Łagodnie poruszać szkiełko i obserwować makroskopowo wyniki pod źródłem światła w ciągu pierwszych 2 min.

II- METODA PÓŁIŁOŚCIOWA

Surowica dodatnia może być rozcieńczona seryjnie w 6 próbkach Kahna.

a) Umieścić 0,4 ml roztworu soli fizjologicznej w próbówce nr 1 i 0,2 ml roztworu soli fizjologicznej w kolejnych 5 próbkach.

b) Dodać 0,1 ml (100 ul) surowicy do próbki nr 1 i zmieszać, przenieść 0,2 ml tego roztworu do próbki nr 2 i zamieszać; kontynuować rozcieńczanie w powyższy sposób aż do ostatniej próbki. Rozcieńczenia otrzymane w ten sposób to 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, itp.

c) Przeprowadzić każde z rozcieńczeń metodą jakościową.

III- BADANIE FRAKCJI GLOBULIN

W próbówce do wirowania umieścić:

Materiał (nierozcieńczoną surowicę)	1 ml
--	------

Następnie dodać po kropli delikatnie wstrząsając:

Odczynnik precypitujący	3,3 ml
--------------------------------	--------

Zmieszać przez odwrócenie, pozostawić w spoczynku przez 30 min. (preferowane chłodne miejsce w lodówce) i odwirować. Odać nadsącz pozostawiając próbkę odwróconą na papierze filtrującym do całkowitego drenażu. Następnie dodać:

Roztwór soli fizjologicznej	1 ml
------------------------------------	------

Rozpuścić precypitat. W ten sposób otrzymany roztwór globulin ma wstępną objętość badanej surowicy i należy przeprowadzić badanie jak w metodzie jakościowej.

2+: łagodna aglutynacja

1+: nieznaczna aglutynacja

Metoda półilościowa

Miano: Jest to odwrotność najwyższego rozcieńczenia przy którym zachodzi makroskopowo aglutynacja.

Przybliżony poziom stężenia czynnika reumatoidalnego w badanym materiale może zostać obliczony z następującego wzoru:

$RF \text{ (IU/ml)} = \text{Miano} \times \text{czułość reakcji (1 IU/ml)}$

Np. materiał ma miano 1:40, stężenie RF w materiale badanym wynosi $40 \times 1 = 40 \text{ IU/ml}$

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Równocześnie należy przeprowadzać próbę kontrolną dodatnią i ujemną używając kropli odpowiedniego dostarczonego odczynnika próby kontrolnej zamiast materiału badanego.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Nie zostały ściśle określone. Wartości powyżej 20-30 IU/ml są rozważane jako patologiczne.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Czuość diagnostyczna: kalibracja wg standardów CDC, czuość określona jest na 1 IU/ml

Wyniki badań przeprowadzonych na materiale pobranym od 176 pacjentów hospitalizowanych zostały porównane z metodą turbidymetryczną otrzymując czuość 100%.

W innym badaniu wykonanym na materiale pobranym od 33 pacjentów z udokumentowanym reumatoidalnym zapaleniem stawów otrzymano 29 próbek dodatnich co stanowi, że 88% pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów jest RF dodatnia.

b) Specyficzność: w badaniach wykonanych na materiale pobranym od 76 pacjentów (50 mężczyzn i 26 kobiet) w wieku pomiędzy 18-47 rokiem życia bez ewidentnych objawów reumatoidalnego zapalenia stawów otrzymano 72 próbki ujemne. Stąd wnioskuję się, że 4% osób zdrowych jest RF dodatnie a czuość wynosi 96%.

WIENER LAB. DOSTARCZA

Zestaw do 50 testów (Nr kat. 1103152).

ŹRÓDŁA

- Singer, J.M. and Plotz, C.M. - Am. J. Clin. Path. 28/611 (1957).
- Singer, J. M. et al. - Am. J. Clin. Path. 72/4:597 (1979).
- Brooks, G. W. and Cobb, S. - Arthritis and Rheumatism 6/3:198 (1963).
- Plotz, C M. and Singer, J.M. - Annual Meeting of the American Rheumatism Association, Chicago (1956).
- Oreskes, I.; Singer, J.M. and Plotz, C.M. - J. Immunology 90:107 (1963).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Metoda jakościowa

Wynik ujemny: zawiesina homogeniczna

Wynik dodatni: aglutynacja pojawia się do 2 minut. Jest określana jakościowo od 1 do 4 (+):

4+: silna aglutynacja

3+: średnia aglutynacja

SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej



Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań



Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed



Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur



No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać



Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne



Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu



Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość



Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii



Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca



Nocivo// Nocivo// Harmful// Substância szkodliwa



Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substância zżąca



Irritante// Irritante// Irritant// Substância drażniąca



Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją



Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator



Control// Controle// Control// Próba kontrolna



Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia



Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna



Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 1177/95



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina