



RF-WAALER

Determinarea factorilor reumatoizi

SLIDE TEST

Doar pentru diagnosticarea *in vitro*

CONTINUT

2375005	RF-Waaler	50 de teste
2375010	RF-Waaler	100 de teste

REF

PRINCIPIUL

Testul RF-Waaler este o procedura de aglutinare rapida, ce se bazeaza pe modificarea metodei Rose-Waaler. Testul se bazeaza pe detectarea directa si pe semi-cantitatea factorilor reumatoizi (RF) din ser.

Analiza se realizeaza prin testarea suspensiei celulelor rosii stabilizate, de oaie, la care se adauga o cantitate mica de gama globulina de iepure, fata de seruri necunoscute.

CONSTITUENTI SI COMPOZITIE

R RF-Waaler Reactiv. Suspensia de celule rosii de oaie, stabilizate (SRC) intr-o solutie tampon salina, si amestecata cu o cantitate mica de IgG de iepure. Contine 0.95 g/L azida de sodiu

Control + Serul uman cu o activitate echivalenta cu aproximativ 25 IU/mL. Contine 0.95 g/L azida de sodiu.

Control - Ser animal cu o activitate < 5 IU/mL. Contine 0.95 g/L de azida de sodiu.

Precautii: Componente de origine umana diferite au fost testate iar rezultatul a fost negativ in cazul prezentei anticorpilor anti-HIV 1+2 si anti-HCV, la fel si in cazul HBsAg. In orice caz, controalele ar trebui sa fie manevrate cu grija deoarece au potential de infectie.

Avertizare: Reactivii din acest kit contin azida de sodiu. Nu este recomandat contactul cu pielea sau cu membranele mucoase.

CONTINUTUL AMBALAJULUI

REF 2375005, 50 kituri test
O eprubeta de reactiv RF-Waaler, 1 x 1 mL control pozitiv, 1 x 1 mL control negativ, 3 placi de reactie a 6 godeuri fiecare si 1 x 50 baghete pentru omogenizare de unica folosinta

REF 2375010, 100 de kituri test
Doua fiole de reactive RF-Latex de 2 mL, 1 x 1 mL control pozitiv, 1 x 1 mL control negativ, 3 placi de reactie a 6 godeuri fiecare si 2 x 50 baghete pentru omogenizare de unica folosinta.

CONSERVARE SI STABILITATE

Se pastreaza la o temperatura de 2-8°C. Nu inghetati. Inghetarea reactivilor ar putea produce schimbari in buna desfasurare a testului.

Antigenul si controalele sunt stabile pana la data expirarii scrisa pe eticheta.

PREPARAREA REACTIVILOR

Reactivul si controalele sunt gata pentru a fii utilizate

PROBE

Ser proaspat fara impuritati.

Dupa ce serul fara impuritati a fost separat poate fii pastrat la o temperatura de 2-8°C timp de o saptamana, pe perioade mai lungi se pastreaza la - 20°C.

MATERIALE DE LUCRU

- Pipete automate;
- Solutie salina (0.9% NaCl, doar in cazul procedurii semi-cantitative).

METODA DE LUCRU

1. Test Cantitativ

1. Aduceti reactivii si probele pentru test la temperatura camerei (Nota 1)
2. Resuspendati usor fiola cu antigen. Aspirati cu pipeta de cateva ori pentru a obtine un amestec complet
3. Pipetati o picatura (50 µL) de ser pe placa de reactie intr-un godeu. Preparati o picatura de ser de control pozitiv cu o picatura de ser de control negative in alte doua godeuri aditionale.
4. Adaugati o picatura de reactiv RF-Waaler in alte godeuri alaturate probei ce este testata
5. Amestecati continutul fiecarui godeu cu o bagheta de omogenizare de unica folosinta si intindeti acest amestec pe toata suprafata godeului. Folositi diferite baghete pentru omogenizare pentru fiecare amestec in parte.
6. Rotati amestecul cu ajutorul unui rotator mecanic (100 r.p.m) timp de **2 minute**. Dupa acest interval de timp inclinati foarte usor placa de reactie pe orizontala la 30° si aduceti-o la pozitia usor initiala. Se lasa asa timp de inca 1 minut. (Nota 2)
7. Observati imediat, cu ajutorul unei surse de lumina potrivite, orice fel de nivel de aglutinare.

Citire:

Nonreactiva: Suspensie usoara cu o aglutinare imperceptibila, asa cum arata controlul negativ.

Reactiva: Orice nivel de aglutinare este vizibil microscopic.

2. Test Semi-cantitativ

1. Pentru fiecare specimen gata de a fii testat pipetati cu o pipeta automata 50 µL de 0.9% solutie salina in fiecare godeu de pe placa de reactie. Nu imprastiati diluentul.
2. In primul godeu adaugati 50 µL de proba in solutia salina si amestecati solutia salina cu proba folosind procedeul de aspirare si expulzare in mod succesiv. Transferati apoi 50 µL din amestec in solutia salina prezenta in cel de al 2-lea godeu.
3. Continuatii sirul de amestec in acelasi mod pana la cel de al 6-lea godeu. Din acest godeu se iau 50 µL. Ultima proba diluata va fii de: 1:2, 1:4, 1:16, 1:32, 1:64.
4. Testati fiecare solutie diluata asa cum este descris in pasii 4-7 din Testul Cantitativ.



Citire:

Citirea se face la fel ca si in cazul Testului Cantitativ. Titrul unei probe se noteaza ca fiind cea mai mare dilutie pe care o prezinta reactia. Urmatoarea valoare mare a dilutiei ar trebui sa fie negativa. (Nota 3).

In cazul in care nivelul cel mai mare al dilutiei testate este reactiva repetati testul pornind de la o dilutie preliminara de 1:16. Folositi 1:50 de dilutie negativa de ser de control in 0.9 % solutie salina pentru a inlocui acest procentaj de solutie salina in urmatoarele 2 serii de dilutie.

Nivelul aproximativ de RF (IU/mL) prezent in proba poate fii obtinut folosind multiplicand titrul ultimei dilutii pozitive cu ajutorul unitatii minime detectabile (sensibilitate analitica)

CONTROL DE CALITATE

Controalele negative sau pozitive ar trebui efectuate in fiecare zi urmarind pasii prezenti in Testul de Calitate, pentru a verifica reactivitatea optima a antigenului.

Controlul pozitiv ar trebui sa produca o aglutinare lipsita de impuritati. In cazul in care rezultatele asteptate nu sunt obtinute, nu folositi kitul.

VALORI NORMALE

In cazul acelor pacienti cu un diagnostic de artrita reumatoida aproximativ 70-80% dintre ei sunt seropozitivi la factorii reumatoizi. Rezultate pozitive au fost observate in aproape toate cazurile in care pacientii sufera de artrita reumatoida cum ar fii sindromul Felty sau Sjogren.

Un rezultat pozitiv poate fii intalnit in mai putin de 5% din cazurile indivizilor sanatosi, in timp ce in cazul populatiei cu varste de 60 de ani si mai in varsta pot fii seropozitivi intr-un procentaj de 30%. In acest caz se folosesc testele de aglutinare pentru a se detecta factorii reumatoizi.

SEMNIFICATIA MEDICALA

Factorii reumatoizi ce se gasesc in serul multor pacienti ce sufera de artrita reumatoida, la fel si in cazul multor altor boli, exista un grup de anticorpi , ce tin mai mult de clasa IgM , directionati fata de determinantilor de fragment Fc in cazul pacientilor cu imunoglobulina IgG.

Testarea factorilor reumatoizi este foarte importanta in comparatie cu metoda de de diagnosticare facuta pe baza istoricului clinic.

PERFORMANTELE ANALIZEI

- Unitatea minima detectabila (sensitivitate analitica) este de aproximativ de 8 IU/mL (6-16 IU/mL). Aceasta unitate este testata avand ca punct de referinta standardul RF ce poate fii gasit in Materialul de Referinta WHO 64/1
- Specificitatea diagnosticului: 93.6%
- Efectul de prozon: Nu a fost detectat nici un fel de efect de prozon cu o valoare de pana la 600 IU/mL
- Rezultatele obtinute cu acest reactiv nu au aratat diferente semnificative cand a fost comparat cu reactivii de referinta. Detalii in ceea ce privesc experimentele comparative sunt disponibile la cerinta.
- Hemoglobina (<10 g/L), bilirubina (<20 mg/dL), si lipemia (<10 g/L) nu intervin. Alte substante pot interveni.

LIMITARILE PROCEDURII

Reactii pozitive apar in conditii diferite de artrita reumatoida cum ar fii mononucleoza, hepatita, sifilisul si in multe alte infectii. Apar de asemenea si in cazul pacientilor in varsta.. Majoritatea acestor probe dau rezultate foarte scazute cand sunt testate de testul cantitativ.

Rezultate negative false pot aparea in cazul pacientilor care se afla intr-o faza a bolii incipienta sau cronica.

NOTA

1. Sensibilitatea testului poate fii redusa la temperaturi scazute. Rezultatele cele mai bune sunt obtinute la temperaturi de 15-25°C

2. Intarzierea citirii rezultatelor poate duce la valori ale anticorpului prezent mai mari decat cele normale.

3. Titrele obtinute cu testul latex nu trebuie sa fie comparate cu cele obtinute cu ajutorul testului Waaler-Rose. Diferentele de titru nu reflecta diferenta existenta intre metode , in capacitatea acestora de a detecta factorii reumatoizi.

SURSELE ERORILOR

- Contaminarea bacteriana a controalelor si probelor, la fel si in cazul inghetarii sau topirii reactivului, poate duce la rezultate pozitive false.
- Urmele de detergent de pe placile de reactie pot da rezultate pozitive false. Spalati placile de reactie intr-o prima faza cu un jet de apa pana cand toti reactantii sunt inlaturati apoi cu apa distilata. Lasati la uscat, evitand folosirea de solventi organici din cauza ca pot impiedica uscarea normala a placilor de reactie.
- Reactivul RF-Waaler nu trebuie sa fie folosit peste data expirarii deoarece o pastrare indelungata pot sa afecteze sensibilitatea suspensiei.

