

ELI.H.A RF

Quantitative Bestimmung des Rheumafaktors im Serum mittels indirekter Hämagglutinations-

220 Tests
(Ref. 04115)



8000180-DE-2011-11

Nur für *in vitro*-Diagnostik und nur für professionelle Anwendungen.
Für den einmaligen Gebrauch.

1 - ZIEL

ELI.H.A RF ermöglicht die quantitative Bestimmung des Rheumafaktors Typ IgM (4, 5) durch indirekte Hämagglutination (10, 11).
Mit dem Kit können 220 Tests oder 20 Reaktionen mit 11 Verdünnungen durchgeführt werden.

2 - EINLEITUNG

Der Rheumafaktor ist ein biologischer Marker von großer diagnostischer Bedeutung bezüglich des Verlaufs der rheumatoiden Polyarthritis bei Erwachsenen (5).

3 - PRINZIP

ELI.H.A RF basiert auf den spezifischen Hämagglutinationseigenschaften des Rheumafaktors, die in Waaler-Rose-Typ-Reaktionen (1, 2, 8) genutzt werden. Die Reagenz **R1** besteht aus roten Blutkörperchen von Schafen, die durch eine Gammaglobulin-Fraktion eines Kaninchenserums gegen rote Blutkörperchen von Schafen sensibilisiert wurden. Das Vorhandensein des Rheumafaktors verursacht eine Hämagglutination der Reagenz **R1** und führt zu einem rot-braunen Schleier, der die Cupula bedeckt. In Abwesenheit des Rheumafaktors setzen sich diese roten Blutkörperchen in Form einer punktförmigen Knospe am Boden der Cupula ab.

Das Reagenz **R2**, bestehend aus einer Suspension nicht sensibilisierter roter Blutkörperchen von Schafen, gewährleistet die Spezifität der Reaktion und eliminiert die Interferenz durch natürliche Anti-Schaf-Agglutinine (Heteroantikörper gegen Frossman, Antikörper gegen infektiöse Mononukleose und andere Makroglobuline).

Die Reaktion findet in einer V-förmigen Mikrotiterplatte statt.

Die Handhabung ist schnell und einfach. Die Ergebnisse liegen in nur 2 Stunden vor.

4 - REAGENZEN UND MATERIAL

Beschreibung	Anzahl
R1 : 4,4-ml-Fläschchen der indikativen Reagenz	1
R2 : 1-ml-Fläschchen mit Kontrollreagenz	1
BUF : 55-ml-Fläschchen mit Phosphatpuffer, pH 7,2	1
R3 : 2-ml-Fläschchen mit Adsorbens	1
CONTROL+ : 0,5-ml-Fläschchen mit titrierter Positivkontrolle	1
CONTROL- : 0,5-ml-Fläschchen mit Negativkontrolle.	1
MIKROTITERPLATTE : V-förmige Mikrotiterplatte	3
TROPFER : Spezieller Tropfer	2

5 - VORSICHTSMASSNAHMEN BEI DER ANWENDUNG

- Reagenzien sind nur für die *in-vitro*-Diagnostik bestimmt und müssen durch autorisiertes Personal eingesetzt werden.
- Die Tests sind für den einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Alle Reagenzien außer der **BUF**-Reagenz enthalten Substanzen tierischen Ursprungs und sollten mit Vorsicht behandelt werden.
- Die Proben sind möglicherweise ansteckend. Sie müssen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und in Übereinstimmung mit den Hygienevorschriften des Verwendungslandes behandelt werden.
- Das Reagenz **R1** enthält Substanzen menschlichen Ursprungs, die negativ auf HIV-Antikörper, HCV-Antikörper und Ag Hbs getestet wurden, aber als potenziell infektiöses Produkt gehandhabt werden sollten.
- **CONTROL**-Fläschchen enthalten Natriumazid (< 0,1 %).
- Verwenden Sie keine Reagenzien, deren Verfallsdatum überschritten wurde.
- Verwenden Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen.
- Warten Sie, bis das Serum und die Reagenzien Raumtemperatur erreicht haben.
- Schütteln Sie die Reagenzien **R1** und **R2** vorsichtig vor Gebrauch.
- Bei der Verabreichung der Reagenzien **R1** und **R2** müssen Sie vorab sicherstellen, dass der Tropfer präzise senkrecht steht. Stellen Sie sicher, dass sich keine Luftblasen in den Tröpfchen befinden, damit die abgegebenen Mengen konstant sind.

6 - SAMMLUNG UND VERARBEITUNG VON PROBEN

Verwenden Sie frische Seren oder Seren, die bei -20 ° C gelagert wurden und keine trübe Hämolyse oder Kontamination aufweisen.

Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

Trennen Sie das Serum niemals in seine einzelnen Bestandteile.

7 - LAGERUNG UND ZUBEREITUNG VON REAGENZEN

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Alle bei 2-8 ° C gelagerten Reagenzien sind bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum stabil. Sie dürfen nicht eingefroren werden.

8 - ERFORDERLICHES, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

- Automatische Pipette(n) mit einem an die zu messende Menge angepassten Pipettivolumen,
- Behälter für kontaminiertes Abfallmaterial;
- Zentrifuge;
- Hämolyseröhrchen.

9 - VORGEHENSWEISE

Warten Sie vor dem Gebrauch, bis die Reagenzien Raumtemperatur erreicht haben.

9.1 - Vorbereitung der Probe

Verdünnen Sie das zu testende Serum auf 1/20:

- 50 µl Serum,
- 950 µl Reagenz **BUF**.

9.2 - Durchführung des Tests auf einer Mikrotiterplatte

- Übertragen Sie mit einer Mehrkanal-Mikropipette 50 µl **BUF**-Reagenz in 12 Vertiefungen der Mikrotiterplatte.

- Geben Sie mit einer Mikropipette 50 µl des verdünnten Serums in die erste Vertiefung.

Mit der **BUF**-Reagenz mischen und vorzugsweise mit Hilfe eines „tulpenförmigen“ Mikroverdrüngen 50 µl der ersten Vertiefung in die zweite Vertiefung, von der zweiten Vertiefung in die dritte Vertiefung und so weiter bis zur 10. Vertiefung übertragen, wobei 50 µl der 10. Vertiefung entsorgt werden.

Daraus ergeben sich Verdünnungen von 1/40 bis 1/20480.

- Übertragen Sie 50 µl des verdünnten Serums in die 11. Vertiefung.

Vertiefung. Mit der **BUF**-Reagenz mischen und 50 µl entsorgen.

Diese Verdünnung (1/40) stellt die Serumkontrolle dar, die dazu dient, die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine nachzuweisen, die bestimmte Seren enthalten können.

- Schütteln Sie die Reagenzien **R1** und **R2** vorsichtig.

- Übertragen Sie einen Tropfen der Reagenz **R1** in die ersten 10 Vertiefungen.
- Übertragen Sie einen Tropfen der Reagenz **R2** in die 11. Vertiefung (Serumkontrolle).
- Übertragen Sie einen Tropfen der Reagenz **R1** in die 12. Vertiefung (Reagenzienkontrolle), die dazu dient, die Gültigkeit der **BUF**-Reagenz und der Reagenz **R1** zu überprüfen.

Hinweis: Führen Sie nur eine Reagenzienkontrolle pro Testreihe durch.

- Homogenisieren Sie den Inhalt der Vertiefungen sehr vorsichtig manuell, indem Sie an die Seiten der flachgelegten Mikrotiterplatte klopfen.

- Lassen Sie die Platte dann bewegungslos und völlig vibrationsfrei liegen.

- Lesen Sie die Reaktion 2 Stunden später ab.

9.3 - Adsorption natürlicher Anti-Schaf-Agglutinine bei Agglutination der Serumkontrolle

- Schütteln Sie die Reagenz **R3** vorsichtig.

- Geben Sie sie in ein Röhrchen und mischen Sie sie mit:

- 0,1 ml Serum,
- 0,3 ml Reagenz **R3**.

- Lassen Sie dies 60 min lang bei Raumtemperatur inkubieren.

- 15 Minuten lang bei 2000 U/min zentrifugieren.

- Sammeln Sie den Kulturüberstand ein. Das Serum wird dann auf 1/4 verdünnt.

- Verdünnen Sie den Kulturüberstand in Reagenz **BUF** auf 1/5, um eine adsorbierte Mutterverdünnung (1/20) zu erhalten.

- Wiederholen Sie das Protokoll „Durchführung des Tests auf Mikrotiterplatte“ und ersetzen Sie die Mutterverdünnung durch die adsorbierte Mutterverdünnung.

10 - ABLESEN UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Negative Reaktion:

Keine Hämagglutination.

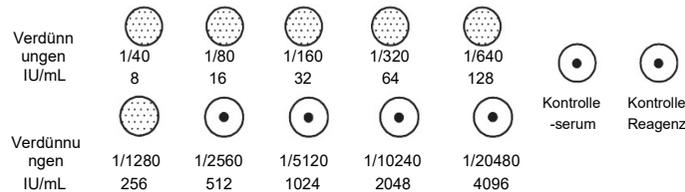
Vorhandensein einer punktförmigen Knospe an der Unterseite der Cupula.

Positive Reaktion:

Vorhandensein von Hämagglutination.

Vorhandensein eines rot/braunen Schleiers, der die Cupula bedeckt.

Beispiel: Bei einer Empfindlichkeitsschwelle von 0,2 IU/ml erhalten wir:



Serum positiv bei 1/1280

Der Titer ergibt sich aus der letzten Verdünnung, die eine Hämagglutination zeigt.

Der Titer in IE/ml entspricht dem Kehrwert dieser Cut-Off-Verdünnung multipliziert mit der Empfindlichkeitsschwelle der Kit-Reagenz.

Beispiel: Wenn ein Serum bis zur Verdünnung 1/1280 positiv ist und die Empfindlichkeitsschwelle 0,2 IE/ml beträgt, beträgt der Titer dieses Serums 1280 x 0,2 = 256 IU/ml.

11 - INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Die Reagenzien **CONTROL+** und **CONTROL-** müssen während der Analyse als Serum behandelt werden. Der Titer des Reagenzes **CONTROL+** muss dem auf dem Etikett des Fläschchens angegebenen Titer bei ± einer Verdünnung entsprechen. Das Reagenz **CONTROL-** darf keine Hämagglutination aufweisen. Wenn dies nicht der Fall ist, ist der Test ungültig.

12 - FEHLERURSACHEN UND EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

- Unsachgemäße Lagerung des Serums.
- Schlechte Lagerung der Reagenzien nach dem Öffnen.
- Verwenden Sie nur den im Kit enthaltenen Tropfer.
- Tauschen Sie die Tropfer nicht zwischen den Reagenzien **R1** und **R2** aus.
- Wenn die Reaktion in den ersten 10 Vertiefungen positiv ist, müssen Sie mit den Verdünnungen fortfahren, um den Grenzwert für den Hämagglutinationstiter zu ermitteln.
- Die Serumkontrolle sollte negativ reagieren (punktförmiger Knopf). Im Falle einer Hämagglutination dieser Kontrolle muss der Test wiederholt werden, nachdem die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine durch Adsorption aus dem Serum entfernt wurden.
- Die Reagenzienkontrolle muss ein negatives Ergebnis (punktförmige Knospe) aufweisen. Im Falle einer Hämagglutination bei dieser Kontrolle ist die Reagenz **ELI.H.A RF** unbrauchbar.
- Einige Seren, deren Antikörperkonzentration sehr hoch ist, können bei den ersten Verdünnungen ein Zonenphänomen (mit Zurückziehen des Schleiers) verursachen, das mit den folgenden Verdünnungen verschwindet.
- Der Rheumafaktor ist ein biologischer Marker von großer diagnostischer Bedeutung für den Verlauf der rheumatoiden Polyarthritis bei Erwachsenen. Der Rheumafaktor ist jedoch nicht spezifisch für rheumatoide Polyarthritis und kann im Allgemeinen in niedrigen Konzentrationen bei gesunden Personen (Personen über 70 Jahre) oder in Bindegewebe (Gougerot-Sjögren-Syndrom, systemischer Lupus erythematosus, gemischte Bindegewebe...) vorhanden werden. Andererseits können zu Beginn der Erkrankung oder bei behandelten Patienten schwache Titer beobachtet werden.
- Der Rheumafaktorspiegel wird im Allgemeinen ab etwa 12 IE/ml als signifikant angesehen (6), wobei die Wahrscheinlichkeit bei höheren Titern (in der Regel ab 30 IE/ml) höher ist (7). Die Empfindlichkeitsschwelle, angegeben in IE/ml (gemäß WHO-Standard), wird für jede Charge im Kit angegeben (6).
- Darüber hinaus ist es empfehlenswert, **WAALER-ROSE Zweifarbig** zu verwenden, um mittels einer Waaler-Rose-Reaktion auf dem Objektträger in 2 Minuten auf den Rheumafaktor zu testen.
- Die Qualität der Reagenzien ermöglicht die Durchführung der Reaktion am Abend und die Ablesung am nächsten Morgen, sofern die Mikrotiterplatte nicht bewegt wird und vor Vibrationen geschützt ist.
- In allen Fällen und bevor die endgültige Diagnose gestellt wird, sollte die Interpretation des Tests unter Einbeziehung aller klinischen, epidemiologischen und biologischen Daten und der Ergebnisse anderer Tests erfolgen.

13 - LEISTUNGEN

Die Ergebnisse der Auswertungen des **ELI.H.A RF**-Tests weisen eine Sensitivität von 97,6 % und eine Spezifität von 97,4 % auf.

14 - ABFALLENTSORGUNG

Abfälle müssen gemäß den Hygienevorschriften und Gesetzen entsorgt werden, die im Verwendungsland für diese Art von Produkt gelten.

Bei versehentlichem Verschütten der **BUF**-Reagenz: Reinigen Sie die Arbeitsfläche mit saugfähigem Papier und spülen Sie sie mit Wasser ab. Wenn das Serum oder eine andere Reagenz verschüttet wird: Mit Bleichmittel und saugfähigem Papier reinigen.

15 - LITERATUR

1. E. WAALER - On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles - *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 1940, 17, 172.
2. H.-M. ROSE, C. RAGAN, E. PEARCE, M.-O. LIPMAN - Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis - *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1948, 681.
3. A. EYQUEM, L. PODLIACHOUK - Diagnostic biologique des rhumatismes inflammatoires chroniques et des collagénoses - *Collection „Techniques de base“*, 1959, Ed. de la Tourelle, Saint-Mandé.
4. N. SVARTZ - Tests sérologiques pour le diagnostic différentiel des affections rhumatismales - *Triangle*, 1959, 4, Nr. 1, 24.
5. K. SIMONS, K. AHO, P. SEPPÄLÄ, O. WAGER - Purification of the Rheumatoid Factor - *Clinica Chimica Acta*, 9, 1964, 519-525.
6. S.-G. ANDERSON, M.-W. BENTZON, V. HOUBA, P. KRAG - International Reference Preparation of Rheumatoid Arthritis Serum - *Bull. WHO*, 1970, 42, 311-318.
7. P. WATTRE, B. DUQUESNOY - Intérêt d'une microméthode originale, d'hémagglutination pour le tirage des facteurs rhumatoïdes - *Feuil. Biol.*, 1981, XXII, Nr. 123, 43-46.
8. Y. RAUTLIN de la ROY, G. GROLLIER, D. BONTOUX, M. ALCALAY, C. MATUCHANSKY - Recherche et dosage des facteurs rhumatoïdes. Comparaison de six réactifs - *Feuil. Biol.*, 1982, XXIII, Nr. 129, 45-51.
9. J. CLOT, J. SANY, A. CLOT, J. MONTAUDO, D. BONTOUX, M. ALCALAY, C. MATUCHANSKY - Etude de 1000 sérums - *Revue du Rhumatisme*, 1983, 50 (3), 181-185.
10. A. MARCELLI-BARGE, P. PREVOST, E. CHAPIUS, M.-C. SIMARD - Diagnostic immunologique de la polyarthrite rhumatoïde à l'aide d'une nouvelle microméthode d'hémagglutination quantitative du facteur rhumatoïde: le Polyartite - *Path. Biol.*, 1983, 31, Nr. 3, 217-220.
11. O. MEYER, O. BORDA-IRIARTE - Détection des facteurs rhumatoïdes par hémagglutination passive. Intérêt d'une microméthode quantitative: le Polyartite - *I.S.B.*, 1983, 9, n° 5, 262-267.
12. A. GUYARD, S. ALBAREDE - Facteurs Rhumatoïdes 00AT11. Echantillon 00G8 - AFSSaPs, 2000.

Die Änderungen gegenüber der Vorgängerversion sind grau hervorgehoben.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANKREICH

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax.: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

