

# ELI.H.A RF

## Ilościowe oznaczanie reumatoidalnego czynnika surowicy metodą hemaglutynacji pośredniej

220 testy  
(nr ref. 04115)



8000180-PL-2011-11

Wyłącznie do użytku diagnostycznego *in vitro*, wyłącznie do użytku profesjonalnego.

Testy jednorazowego użytku.

### 1 - CEL

ELI.HA RF umożliwia ilościowe oznaczenie reumatoidalnego czynnika surowicy typu IgM (4, 5) przez pośrednią hemaglutynację (10, 11).

Zestaw pozwala na wykonanie 220 testów lub 20 reakcji na 11 rozcieńczeń.

### 2 - WPROWADZENIE

Czynnik reumatoidalny jest markerem biologicznym o dużym znaczeniu diagnostycznym w przebiegu reumatoidalnego zapalenia wielostawowego u dorosłych (5).

### 3 - ZASADA

ELI.HA RF opiera się na specyficznych właściwościach hemaglutynacyjnych czynnika reumatoidalnego, stosowany w reakcjach typu Waalera-Rose (1, 2, 8). Odczynnik R1 składa się z czerwonych krwinek owiec uczulonych przez frakcję gamma globulin z króliczej surowicy przeciw czerwonym krwinkom. Obecność reumatoidalnego czynnika surowicy powoduje hemaglutynację odczynnika R1 co skutkuje czerwona/brązową zasłonką pokrywającą kopułę. W przypadku braku czynnika reumatoidalnego te czerwone krwinki osadzają się na dnie osklepka w postaci znaku punktowego.

Odczynnik R2, składający się z zawiesiny nieuwalnianych krwinek czerwonych owcy, zapewnia specyficzność reakcji i eliminuje interferencję naturalnych aglutynin owczych (heteroprzeciwiata Frossmana, przeciwiata mononukleozy zakaźnej i inne makroglobuliny).

Reakcja zachodzi na płytce mikromiareczkowej w kształcie litery V. Postępowanie jest szybkie i łatwe. Wyniki są uzyskiwane w ciągu 2 godzin.

### 4 - ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Opis	Liczba
R1 : fiołka 4,4 ml z odczynnikiem wskaźnikowym	1
R2 : fiołka 1ml odczynnika kontrolnego	1
BUF: fiołka 55 ml buforu fosforanowego pH 7,2	1
R3 : fiołka 2 ml adsorbentu	1
CONTROL + : fiołka 0,5 ml miareczkowanej kontroli pozytywnej	1
CONTROL - : fiołka 0,5 ml z kontrolą ujemną	1
MIKROPLYTKA: płytka mikromiareczkowa w kształcie litery V	3
KROPLOMIERZ: specjalna pipeta	2

### 5 - ŚRODKI OSTROŻNOŚCI DOTYCZĄCE STOSOWANIA

Odczynnik przeznaczony jest do diagnostyki *in vitro* i powinien być obsługiwany przez upoważnioną osobę.

Testy są do jednorazowego użytku.

Wszystkie odczynniki z wyjątkiem odczynnika BUF, zawierają substancje pochodzenia zwierzęcego i należy się z nimi obchodzić ostrożnie.

Próbki są potencjalnie zakaźne. Należy się z nimi obchodzić z zachowaniem zwykłych środków ostrożności i zgodnie z zasadami higieny obowiązującymi w kraju użytkowania.

Odczynnik R1 zawiera substancje pochodzenia ludzkiego, dla których testy na przeciwiata HIV, przeciwiata HCV i Ag Hbs były negatywne, ale powinny być traktowane jako produkt potencjalnie zakaźny.

KONTROLA fiołki zawierają azyd sodu (< 0,1%).

Nie używaj odczynników po upływie terminu ważności.

Nie używaj odczynników z różnych partii.

Poczekaj, aż surowica i odczynnik osiągną temperaturę pokojową.

Ostrożnie wstrząśnij odczynnikami R1 oraz R2 przed użyciem.

Podczas podawania odczynników R1 oraz R2 należy upewnić się, że kroplomierz jest idealnie pionowy. Sprawdź, czy w kroplach nie ma pęcherzyków powietrza, aby dostarczane objętości były stałe.

### 6 - POBIERANIE I PRZETWARZANIE PRÓBEK

Użyj świeżych surowic lub surowic przechowywanych w temperaturze -20°C, które nie wykazują mętnej hemolizy ani zanieczyszczenia.

Unikaj wielokrotnego zamrażania i rozmrażania.

Nigdy nie dekompresuj surowicy.

### 7 - PRZECHOWYWANIE I PRZYGOTOWYWANIE ODCZYNNIKÓW

Odczynniki są gotowe do użycia.

Wszystkie odczynniki przechowywane w temperaturze 2-8°C są stabilne do daty ważności podanej na opakowaniu. Nie wolno ich zamrażać.

### 8 - MATERIAŁ WYMAGANY, ALE NIE DOSTARCZONY

Pipety automatyczne o objętości pipetowania dostosowanej do mierzonej ilości;

pojemniki na skażone odpady;

wirówka;

próbówki do hemolizy.

### 9 - METODA

Przed użyciem odczynników powinny osiągnąć temperaturę pokojową.

#### 9.1 - Przygotowanie próbek

Rozcieńcz testowaną surowicę do 1/20:

- 50 µl surowicy;
- 950 µl odczynnika BUF.

#### 9.2 - Wykonanie testu na płytce mikromiareczkowej

Za pomocą mikropipety wielokanałowej odmierź 50 µl odczynnika BUF w 12 basenikach płytki mikromiareczkowej.

Za pomocą mikropipety przenieś 50 µl rozcieńczonej surowicy do 1 basenika.

Wymieszaj z odczynnikiem BUF i nałóż, najlepiej przy użyciu mikrorozcieńczalnika („tulipan”), 50 µl z 1 baseniku do 2 baseniku, z 2 baseniku do 3i tak dalej aż do 10 baseniku dobrze, z czego 50 µl należy usunąć z 10 baseniku.

W ten sposób uzyskuje się rozcieńczenia od 1/40 do 1/20480.

Przenieś 50 µl rozcieńczonej surowicy do 11 baseniku.

Wymieszaj z odczynnikiem BUF i usuń 50 µl.

To rozcieńczenie (1/40) stanowi kontrolę surowicy, której zadaniem jest wykrycie naturalnych aglutynin antyseptycznych, które mogą zawierać niektóre surowice.

Ostrożnie wstrząśnij odczynnikami R1 oraz R2 przed użyciem.

- Nałóż 1 kroplę odczynnika R1 w pierwszych 10 basenikach.
- Umieść 1 kroplę odczynnika R2 w 11 baseniku (kontrola surowicy).
- Nałóż 1 kroplę odczynnika R1 w 12 baseniku (kontrola odczynnika), którego zadaniem jest sprawdzenie ważności odczynnika BUF i odczynnika R1.

Uwaga: przeprowadź tylko jedną kontrolę odczynnika na serię.

Homogenizuj zawartość baseników bardzo ostrożnie ręcznie, stukając w boki płasko umieszczonej płytki mikromiareczkowej.

Następnie pozostaw płytkę nieruchomą i całkowicie wolną od wibracji.

Odczytaj odpowiedź 2 godziny później.

### 9.3 - Adsorpcja naturalnych antyaglutynin antyseptycznych w przypadku aglutynacji kontroli surowicy

Ostrożnie wstrząśnij odczynnikiem R3.

Umieść go w próbówce i wymieszaj:

- 0,1 ml surowicy;
- 0,3 ml odczynnika R3.

Inkubuj przez 60 min w temperaturze pokojowej.

Wiruj przy 2000 obr./min przez 15 min.

Zbierz supernatant; surowica jest następnie rozcieńczana do 1/4.

Rozcieńcz supernatant do 1/5 w odczynniku BUF w celu uzyskania zaadsorbowanego rozcieńczenia macierzystego (1/20).

Powtórz protokół „Przeprowadzanie testu na płytce mikromiareczkowej” i zastąp rozcieńczenie macierzyste zaadsorbowanym rozcieńczeniem macierzystym.

### 10 - ODCZYT I INTERPRETACJA WYNIKÓW

Negatywna reakcja:

Brak hemaglutynacji.

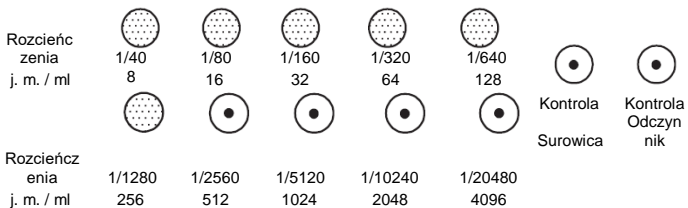
Obecność znaków punktowych na spodzie osklepka.

Pozytywna reakcja:

Obecność hemaglutynacji

Obecność czerwono-brązowej zasłonki zakrywającej osklepki.

Przykład: dla progu czułości 0,2 j.m./ml otrzymujemy:



☞ Surowica dodatnia przy 1/1280

Miano określa się na podstawie ostatniego rozcieńczenia wykazującego hemaglutynację. Miano w j.m./ml jest równe odwrotności tego rozcieńczenia granicznego pomnożonej przez próg czułości odczynnika w zestawie.

Przykład : jeśli surowica jest dodatnia w rozcieńczeniu 1/1280, a próg czułości wynosi 0,2 j.m./ml, miano tej surowicy 1280 x 0,2 = 256 j.m./ml.

### 11 - WEWNETRZNA KONTROLA JAKOŚCI

Odczynniki CONTROL+ oraz CONTROL- powinny być traktowane jak surowice podczas analizy. Miano odczynnika CONTROL+ powinno być równe mianu podanemu na etykiecie fiołki przy ± jednym rozcieńczeniu. Odczynnik CONTROL- musi wykazywać brak hemaglutynacji. W przeciwnym razie test jest nieważny.

### 12 - PRZYCZYNY BŁĘDÓW I OGRANICZENIA TESTU

- Nieprawidłowo przechowywane serum.
- Złe przechowywanie odczynników po otwarciu.
- Używaj wyłącznie kroplomierzy dostarczonych w zestawie.
- Nie wymieniaj kroplomierzy między odczynnikami R1 oraz R2.
- Jeśli reakcja jest dodatnia w pierwszych 10 basenikach, należy kontynuować rozcieńczenia w celu znalezienia granicznego miana hemaglutynacji.
- Kontrola surowicy powinna dać reakcję ujemną (znak punktowy). W przypadku hemaglutynacji tej kontroli, test należy powtórzyć po usunięciu z surowicy przez adsorpcję naturalnych antyaglutynin antyseptycznych.
- Kontrola odczynnika powinna dać reakcję ujemną (znak punktowy). W przypadku hemaglutynacji tej kontroli odczynnik ELI.HA RF nie nadaje się do użytku.
- Niektóre surowice, w których stężenia przeciwciał są bardzo wysokie, mogą powodować zjawisko strefy (z cofaniem się zasłonki) przy pierwszych rozcieńczeniach, które znika przy kolejnych rozcieńczeniach.
- Czynnik reumatoidalny jest markerem biologicznym o dużym znaczeniu diagnostycznym w przebiegu reumatoidalnego zapalenia wielostawowego u dorosłych. Jednak czynnik reumatoidalny nie jest specyficzny dla reumatoidalnego zapalenia wielostawowego i generalnie można go znaleźć w niskim stężeniu u zdrowych osób (osoby powyżej 70. roku życia) lub w chorobach łącznych (zespół Gougerota Sjögrena, toczeń rumieniowaty układowy, stwardnienie mieszanne...).
- Z drugiej strony słabe miano można zaobserwować na początku choroby lub u leczonych pacjentów.
- Ogólne uważa się, że poziom czynnika reumatoidalnego jest znaczący, gdy przekracza około 12 IU/ml (7), chociaż prawdopodobieństwo jest większe, gdy miano jest wyższe (na ogół od 30 IU/ml) (7). Próg czułości wyrażony w j.m./ml (określony w odniesieniu do standardu WHO) jest podawany dla każdej partii w zestawie (6).
- Ponadto zaleca się stosowanie WAALER-ROSE Bicolor, co umożliwia badanie przesiewowe pod kątem czynnika reumatoidalnego w ciągu 2 minut za pomocą reakcji Waalera-Rose'a na szkiełku.
- Jakość odczynników pozwala na przeprowadzenie reakcji wieczorem i odczyt następnego dnia rano, pod warunkiem, że płytka mikromiareczkowa nie jest poruszana i jest chroniona przed wibracjami.
- We wszystkich przypadkach, przed postawieniem ostatecznej diagnozy, należy przeprowadzić interpretację testu z uwzględnieniem wszystkich danych klinicznych, epidemiologicznych i biologicznych oraz wyników innych testów.

### 13 - WYNIKI

Wyniki ocen z testu ELI.HA RF wykazują czułość 97,6% i dokładność 97,4%.

### 14 - UTYLIZACJA ODPADÓW

Odpady należy usuwać zgodnie z zasadami higieny i przepisami obowiązującymi w kraju użytkowania tego typu produktu.

W przypadku przypadkowego rozlania odczynnika BUF: oczyścić powierzchnię roboczą papierem chłonnym i spłukać wodą. W przypadku rozlania surowicy lub innego odczynnika należy wyczyścić wybielaczem i papierem chłonnym.

### 15 - BIBLIOGRAFIA

1. E. WAALER - On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles - *Acta Path. Microbiol. Zeskanowana*, 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 collagenoses - *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, n° 1, 24.
5. K. SIMONS, K. AHO, P. SEPPALA, 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. W.H.O.*, 1970, 42, 311-318.
7. P. WATTRE, B. DUQUESNOY - Intérêt d'une microméthode originale, d'hémagglutination pour le titrage des facteurs rhumatoïdes - *Feuil. Biol.*, 1981, XXII, n° 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, n° 129, 45-51.
9. J. CLOT, J. SANY, A. CLOT - Dosage des facteurs rhumatoïdes par Néphélométrie Laser. Etude de 1000 sérums - *Revue du Rhumatisme*, 1983, 50 (3), 181-185.
10. A. MARCELLI-BARGE, P. PREVOST, E. CHAPIUIS, M.-C. SIMARD - Diagnostic immunologique de la polyarthrite rhumatoïde à l'aide d'une nouvelle microméthode d'hémagglutination quantitative du facteur rhumatoïde: le Polyartre - *Path. Biol.*, 1983, 31, n° 3, 217-220.
11. O. MEYER, O. BORDA-IRARTE - Détection des facteurs rhumatoïdes par hémagglutination passive. Intérêt d'une microméthode quantitative: le Polyartre - *J.S.B.*, 1983, 9, n° 5, 262-267.
12. A. GUYARD, S. ALBAREDE - Facteurs Rhumatoïdes 00AT1H. Echantillon 00G8 - AFSSaPs, 2000.

Zmiany w stosunku do poprzedniej wersji są zaznaczone na szaro.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANCE

☎ 33 (0)4 94 88 55 00

Faks: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

