

WAALER-ROSE Bicolor

Test d'hémagglutination sur lame pour la détection du Facteur Rhumatoïde sérique

50 tests
(Réf. 04175)

100 tests
(Réf. 04176)

8000300-fr-2011-11



1 - BUT

Le **WAALER-ROSE Bicolor** est un test d'hémagglutination sur lame pour la recherche rapide qualitative et semi-quantitative du Facteur Rhumatoïde de type IgM présent dans la plupart des sérums de malades atteints de polyarthrite rhumatoïde (1, 3).

Réf. 04175 permet de réaliser 50 tests avec un coffret.

Réf. 04176 permet de réaliser 100 tests avec un coffret.

2 - INTRODUCTION

Le Facteur Rhumatoïde constitue un marqueur biologique d'un grand intérêt diagnostique au cours de la polyarthrite rhumatoïde de l'adulte (5).

3 - PRINCIPE

Le **WAALER-ROSE Bicolor** est basé sur les propriétés hémagglutinantes spécifiques du Facteur Rhumatoïde, utilisées dans les réactions de type Waaler-Rose. Le réactif **REAG** est constitué d'hématies de mouton recouvertes par une fraction de gammaglobulines d'un sérum de lapin anti-hématies de mouton.

Un sérum contenant du Facteur Rhumatoïde, mélangé à ces hématies traitées, entraîne l'apparition d'une hémagglutination sur fond bleu. En l'absence de Facteur Rhumatoïde, le mélange reste homogène de couleur marron-vert.

La manipulation est simple et rapide. Elle est effectuée sur sérum pur et les résultats sont obtenus en 2 minutes.

4 - REACTIFS ET MATERIEL

Description - Coffret 50 tests (Réf. 04175)	Quantité
REAG : flacon de 2,5 mL d'hématies sensibilisées	1
CONTROL + : flacon de 0,3 mL de contrôle positif	1
CONTROL - : flacon de 0,3 mL de contrôle négatif	1
TEST CARD : lames à usage unique	7
STICK : agitateurs à usage unique	50

Description - Coffret 100 tests (Réf. 04176)	Quantité
REAG : flacons de 2,5 mL d'hématies sensibilisées	2
CONTROL + : flacon de 0,5 mL de contrôle positif	1
CONTROL - : flacon de 0,5 mL de contrôle négatif	1
TEST CARD : lames à usage unique	13
STICK : agitateurs à usage unique	100

5 - PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Les réactifs sont destinés uniquement à un diagnostic *in vitro* et doivent être manipulés par des personnes habilitées.
- Les tests sont à usage unique.
- Les réactifs contiennent des substances d'origine animale. Les prélèvements sont potentiellement infectieux. Ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Le produit contient de l'azide de sodium (<0,1%).
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser de réactifs ni de contrôles provenant de lots différents.
- Bien attendre que les réactifs s'équilibrent à température ambiante.
- Agiter soigneusement le réactif **REAG** avant utilisation.
- Lors de la distribution du réactif **REAG**, veiller à ce que le flacon distributeur soit parfaitement vertical. Vérifier l'absence de bulles d'air dans les gouttes, afin que les volumes délivrés soient constants. Avant utilisation, essuyer l'embout du flacon distributeur du réactif **REAG** afin d'obtenir des gouttes bien calibrées.

6 - RECUEIL DES PRELEVEMENTS

Utiliser du sérum fraîchement prélevé.

Les échantillons sériques peuvent être conservés 24 heures à 2°-8°C. Si le test n'est pas effectué dans les 24 heures qui suivent le prélèvement, ils doivent être congelés à -20°C. Il est recommandé de préparer des aliquots pour éviter les congélations et décongelations successives.

Ne pas décomplémenter le sérum.

Ne pas utiliser de sérum hémolysé, trouble ou contaminé.

7 - CONSERVATION ET PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Les réactifs sont conservés à 2-8°C et sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret.

Ne pas congeler les réactifs.

8 - MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Pipette(s) automatique(s) au volume de pipetage adapté à la quantité à mesurer ;
- Tubes à hémolyse ;
- Eau physiologique ;
- Récipient pour déchets contaminés.

9 - MODE OPERATOIRE

Equilibrer les réactifs à température ambiante avant emploi.

TECHNIQUE QUALITATIVE

- A l'aide d'une micropipette, déposer 25 µL du sérum à analyser dans un des cercles de la lame à usage unique.
- Agiter soigneusement le réactif **REAG** et en déposer une goutte à l'aide du flacon distributeur.
- Mélanger les deux gouttes à l'aide d'un agitateur à usage unique.
- Appliquer un lent mouvement de rotation pendant 2 minutes et puis poser la lame sur une surface plane.
- Observer pendant les 2 minutes d'agitation l'apparition éventuelle d'agglutinats marrons sur fond bleu ou, après ces 2 minutes, appliquer une légère bascule à la lame après l'avoir posée sur le plan de travail.

TECHNIQUE SEMI-QUANTITATIVE

En cas de résultat positif sur sérum pur, il est possible d'évaluer le taux de Facteur Rhumatoïde en testant des dilutions croissantes du sérum à analyser en eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'une réaction négative.

- Préparer une série de dilutions du sérum dans l'eau physiologique, comme indiqué ci-après :

Tube 1	Dilution 1/2	100 µL d'échantillon + 100 µL d'eau physiologique
Tube 2	Dilution 1/4	100 µL du tube 1 + 100 µL d'eau physiologique
Tube 3	Dilution 1/8	100 µL du tube 2 + 100 µL d'eau physiologique
Tube 4	Dilution 1/16 ...	100 µL du tube 3 + 100 µL d'eau physiologique

- Effectuer un test sur lame avec chaque dilution en suivant le protocole décrit au paragraphe "TECHNIQUE QUALITATIVE".

10 - LECTURE

Réaction positive : Formation d'agglutinats marrons sur fond bleu plus ou moins intense.

Réaction négative : Absence d'agglutination. La suspension reste homogène de couleur marron-vert.

Le titre en UI/mL est égal à l'inverse de la plus haute dilution donnant des agglutinats multiplié par le seuil de sensibilité du réactif indiqué sur le coffret .

Exemple : Si un sérum est positif jusqu'à la dilution 1/8, et que le seuil de sensibilité est de 8 UI/mL, le titre de ce sérum sera alors de 8 x 8 = 64 UI/mL.

Attention : Ne pas interpréter une légère granulation sur fond marron-vert comme une réaction positive.

11 - INTERPRETATION DES RESULTATS

RESULTAT	INTERPRETATION
POSITIF	Présence du Facteur Rhumatoïde
NEGATIF	Absence du Facteur Rhumatoïde

12 - CONTROLE QUALITE INTERNE

Les réactifs **CONTROL** sont prêts à l'emploi **et doivent être utilisés purs. Ils permettent de valider le test.**

Le réactif **CONTROL +** doit présenter une agglutination et le réactif **CONTROL -** une absence d'agglutination. Si tel n'est pas le cas, le test n'est pas valide.

13 - CAUSES D'ERREURS ET LIMITES DU TEST

- Le Facteur Rhumatoïde constitue un marqueur biologique d'un grand intérêt diagnostique au cours de la polyarthrite rhumatoïde de l'adulte. Associé à une réaction de type FII (**ELITex Bicolor RF**), le Facteur Rhumatoïde est retrouvé chez 80% des malades après un an d'évolution (2). Cependant, le Facteur Rhumatoïde n'est pas spécifique de la polyarthrite rhumatoïde et peut être retrouvé, généralement à des taux faibles, chez des sujets sains (sujets âgés de plus de 70 ans), ou dans les connectivites (Syndrome de Gougerot-Sjögren, lupus érythémateux disséminé, connectivites mixtes...).

D'autre part, des titres faibles peuvent être observés au début de la maladie ou chez des malades traités.

- Il est généralement admis que le taux de Facteur Rhumatoïde est significatif lorsqu'il est supérieur à environ 12 UI/mL (4), bien que la probabilité soit plus forte lorsque le titre est plus élevé (en général à partir de 30 UI/mL). Le seuil de sensibilité, exprimé en UI/mL (déterminé par rapport au WHO Standard), est indiqué pour chaque lot sur le coffret.

- Dans tous les cas et avant l'établissement du diagnostic final, l'interprétation du test doit être réalisée en intégrant l'ensemble des données cliniques, épidémiologiques et biologiques ainsi que des résultats des autres tests.

14 - PERFORMANCES

Les résultats des évaluations du test **WAALER-ROSE Bicolor** montrent une sensibilité de 98,79 % et une spécificité de 98,79 %.

15 - ELIMINATION DES DECHETS

Les déchets doivent être éliminés en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur pour ce type de produit dans le pays d'utilisation. En cas de versement de sérum ou de réactif, nettoyer à l'aide d'eau de Javel et de papier absorbant.

16 - BIBLIOGRAPHIE

1. N.SVARTZ - Tests sérologiques pour le diagnostic différentiel des affections rhumatismales - *Triangles*, 1959, 4, n°1, 24.
2. M.-F. KAHN, S de SEZE, J.GUINO - Etude d'une méthode de mise en évidence du facteur rhumatoïde proche de la réaction de Waaler-Rose ; détection sur lame à froid, utilisant des globules despécifiés - *Extrait de Rhumatologie*, tome XX, n°5, mai 1968, pages 167-174.
3. K.SIMONS, K.AHO, P.SEPPÄLÄ, O.WAGER - Purification of the Rheumatoid Factor - *Clinica Chimica Acta*, 9, 1964, 519-525.
4. 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.
5. M.HELIOVAARA, K.AHO, P.KNEKT, A.AROMAA, J.MAATELA, A.REUNANEN - Rheumatoid factor, chronic arthritis and mortality - *Annals of the Rheumatic Diseases*, 1995, 54, 811-814.



ELITech MICROBIO
Parc d'Activités du Plateau
19 Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎ : 04 94 88 55 00
☎ : 04 94 88 55 22

WAALER-ROSE Bicolor

Haemagglutination slide test for the detection of Rheumatoid Factor in serum samples

50 tests
(Ref. 04175)

100 tests
(Ref. 04176)

8000300-en-2011-11



1 - AIM

WAALER-ROSE Bicolor is a haemagglutination slide test for the rapid qualitative and semi-quantitative detection of IgM Rheumatoid Factor in sera from most patients with rheumatoid arthritis (1, 3).

Each kit, Ref. 04175, allows 50 tests to be carried out.
Each kit, Ref. 04176, allows 100 tests to be carried out.

2 - INTRODUCTION

The Rheumatoid Factor is a high diagnostic interest biological marker for adult rheumatoid arthritis (5).

3 - PRINCIPLE

WAALER-ROSE Bicolor is based on the Rheumatoid Factor specific haemagglutination properties, used in reactions of the Waaler-Rose type.

The **REAG** reagent is composed of sheep red blood cells sensitized by gamma globulins fraction of rabbit anti-sheep red blood cells serum.

The presence of Rheumatoid Factor in serum sample is revealed by haemagglutination on a blue background, visible to the naked eye. Otherwise, no agglutination is observed and the suspension remains homogeneous and an uniform green-brown colour.

Handling is simple and fast. It is performed on pure serum and the results are obtained in 2 minutes.

4 - REAGENTS AND MATERIAL

Description - Kit of 50 tests (Ref. 04175)	Quantity
REAG: dispenser vial containing 2.5 mL of sensitized red blood cells	1
CONTROL +: vial containing 0.3 mL of positive control	1
CONTROL -: vial containing 0.3 mL of negative control	1
TEST CARD: disposable reaction cards	7
STICK: disposable stirrers	50

Description - Kit of 100 tests (Ref. 04176)	Quantity
REAG: dispenser vials containing 2.5 mL of sensitized red blood cells	2
CONTROL +: vial containing 0.5 mL of positive control	1
CONTROL -: vial containing 0.5 mL of negative control	1
TEST CARD: disposable reaction cards	13
STICK: disposable stirrers	100

5 - PRECAUTIONS

- The reagents are intended solely for *in vitro diagnostic* use and must be handled by authorized personnel.
- Tests are for a single use only.
- Reagents contain raw materials of animal origin. The samples are potentially infectious. They must be handled with caution, in observance of hygiene rules and current regulations for this type of product in the country of use.
- The product contains sodium azide (< 0.1 %).
- Do not use reagents after the expiry date.
- Do not use reagents from different batch numbers.
- Allow reagents to reach room temperature.
- Carefully shake the **REAG** reagent before use.
- When dispensing the **REAG** reagent, make sure that the dispenser vial is perfectly vertical. Check for the absence of air bubbles in the drops to ensure constant delivery volumes. Wipe the tip of the **REAG** reagent dispenser vial in order to obtain

calibrated drops.

6 - SAMPLE COLLECTION

Use fresh serum.

The serum can be stored during 24 hours at 2-8°C. If the test is not performed within 24 hours after the sample collection, the serum must be frozen at - 20°C. It is recommended to prepare aliquots in order to avoid repeated freezing and defrosting. Do not deplement the serum.

Do not use a serum showing any sign of haemolysis, cloudiness or contamination.

7 - STABILITY, STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

All reagents are ready-to-use.

All reagents stored at 2-8°C, in their original packaging, are stable until the expiry date indicated on the box.

Do not freeze.

8 - MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Automatic pipette(s) with a pipetting volume adapted to the volume that will be measured;
- Haemolysis tubes;
- Physiological water;
- Contaminated waste container.

9 - METHOD

Allow the reagents to reach room temperature before use.

QUALITATIVE METHOD

- Using a micropipette, add 25 µL of serum to one disposable slide circle.
- After ensuring that the **REAG** reagent is well mixed, add 1 drop using the dispenser vial.
- Mix the 2 drops with a disposable stirrer.
- Apply a slow rotation for 2 minutes and then put the slide on a flat area.
- Observe during the 2 minutes the possible appearance of brown agglutinates on a blue background or after those 2 minutes, apply a slight switch to the slide after its laying on the work surface.

SEMI-QUANTITATIVE METHOD

In case of a positive result on pure serum, it is possible to evaluate the amount of Rheumatoid Factor by testing increasing dilutions in physiological water, until a negative reaction is obtained:

a. Prepare a serie of sample dilutions in physiological water, as indicated below:

Tube 1	Dilution 1:2	100 µL of sample + 100 µL of physiological water
Tube 2	Dilution 1:4	100 µL of tube 1 + 100 µL of physiological water
Tube 3	Dilution 1:8	100 µL of tube 2 + 100 µL of physiological water
Tube 4	Dilution 1:16...	100 µL of tube 3 + 100 µL of physiological water

b. Carry out a slide test for each dilution following the procedure described in §"QUALITATIVE METHOD".

10 - READING

Positive reaction: Formation of brown agglutinates on more or less blue intense background.

Negative reaction: No agglutination. The suspension remains homogeneous and green-brown.

The titer in IU/mL is equal to the inverse of the higher dilution showing a clear agglutination multiplied by the sensitivity threshold printed on the box (determined by WHO standard).

Example: if a serum is positive until 1:8 dilution, and if the sensitivity threshold is 8 IU/mL, the titer of the serum will be: 8 x 8 = 64 IU/mL.

Warning: A slight granulation in the green-brown background should not be confounded with a positive reaction.

11 - INTERPRETATION OF RESULTS

RESULT	INTERPRETATION
POSITIVE	Presence of Rheumatoid Factor
NEGATIVE	Absence of Rheumatoid Factor

12 - INTERNAL QUALITY CONTROL

The **CONTROL** reagents are ready-to-use and have to be used pure. They allow to validate the test. An agglutination must be observed with the **CONTROL+** reagent and no agglutination must be observed with the **CONTROL-** reagent. If not, then the test is not valid.

13 - CAUSES OF ERROR AND TEST LIMITS

- The Rheumatoid Factor is a high diagnostic interest biological marker for adult rheumatoid arthritis. When associating a FIIT-type reaction (**ELITex Bicolor RF**), it has been observed for 80% of the patients after a one year evolution period (2). Nevertheless, the Rheumatoid Factor is not specific and may also be present, at low levels, in healthy people (more than 70 years old) or in case of connectivities (Gougerot Sjögren syndrome, disseminated lupus erythematosus, mixed connectivities...). On the other hand, low titers may be observed at the beginning of the disease in treated patients.

- It is generally admitted that the level of Rheumatoid Factor is significant when higher than about 12 IU/mL (4), although the probability is higher for a more elevated titer (usually 30 IU/mL) or more. Each batch sensitivity threshold, expressed in IU/mL (determined by W.H.O Standard) is printed on the box.

- In all cases, it is necessary that the clinical, epidemiologic and biological data as well as other test results are fully taken into consideration before establishing the final diagnosis.

14 - PERFORMANCE

Evaluation has demonstrated that the test **WAALER-ROSE Bicolor** has a sensitivity of 98.79 % and a specificity of 98.79 %.

15 - WASTE ELIMINATION

Waste should be disposed of in accordance with the hygiene rules and current regulations for this kind of product in the country of use.
If the reagent or the serum is spilled, clean using bleach and absorbent paper.

16 - BIBLIOGRAPHY

1. N.SVARTZ - Tests sérologiques pour le diagnostic différentiel des affections rhumatismales - *Triangles*, 1959, 4, n° 1, 24.
2. M.-F. KAHN, S de SEZE, J.GUINO - Etude d'une méthode de mise en évidence du facteur rhumatoïde proche de la réaction de Waaler-Rose ; détection sur lame à froid, utilisant des globules despécifiés - *Extrait de Rhumatologie*, tome XX, n°5, mai 1968, pages 167-174.
3. K.SIMONS, K.AHO, P.SEPPÄLÄ, O.WAGER - Purification of the Rheumatoid Factor - *Clinica Chimica Acta*, 9, 1964, 519-525.
4. 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.
5. M.HELIOVAARA, K.AHO, P.KNEKT, A.AROMAA, J.MAATELA, A.REUNANEN - Rheumatoid factor, chronic arthritis and mortality - *Annals of the Rheumatic Diseases*, 1995, 54, 811-814.

ELITech MICROBIO
Parc d'Activités du Plateau
19 Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎ : 04 94 88 55 00
Fax : 04 94 88 55 22

