

Determinazione quantitativa del RF (Fattore Reumatoide) nel siero e nel plasma. Metodo Immunoturbidimetrico.

REF TB1023 R1: 2x25 mL+ R2: 1x10 mL + R3: 1x1 mL (cal)

PRINCIPIO DEL METODO

Il Fattore Reumatoide reagisce con le IgG umane aggregate producendo una torbidità misurabile fotometricamente a 340 nm. La misurazione dell'assorbanza è proporzionale alla concentrazione del Fattore Reumatoide nel campione in esame. Utilizzando un set di calibrazione a concentrazione nota, è possibile calcolare la quantità di Fattore Reumatoide presente nei campioni incogniti.

SIGNIFICATO CLINICO

Il Fattore Reumatoide (FR) è un autoanticorpo, ossia una IgM prodotta dal sistema immunitario in grado di riconoscere ed attaccare i tessuti dell'organismo di appartenenza poiché erroneamente riconosciuti come estranei. Sebbene il ruolo biologico del FR non sia stato ben chiarito, la sua presenza è un utile indicatore di infiammazione e di attività automunitaria. Questo test rileva e misura la quantità di FR nel circolo ematico.

Il test del FR è un utile sostegno alla diagnosi di Artrite Reumatoide (AR). Circa l'80% delle persone affette da AR presentano livelli elevati di FR. Tuttavia il FR può essere rilevato anche in pazienti affetti da altre patologie, inclusi vari disordini autoimmuni come la Sindrome di Sjögren, infezioni batteriche, virali o parassitarie persistenti e, in piccole percentuali (1-5%) può essere rilevato anche in persone sane.

Il dosaggio del FR può essere richiesto nel caso in cui una persona mostri segni e sintomi di AR. I sintomi includono dolore, senso di calore, gonfiore e rigidità mattutina delle articolazioni, presenza di noduli sottocutanei e, nelle fasi avanzate della malattia, evidenza radiografica di gonfiore delle capsule articolari e perdita di cartilagine e ossa. Nel caso in cui il test del FR fornisca un risultato negativo ma i sintomi persistano, è opportuno ripetere il test.

Infine, il FR può essere utilizzato insieme ad altri esami relativi a varie patologie autoimmuni, come il test per la ricerca degli anticorpi anti-nucleari (ANA), o altri marcatori di infiammazione, come la proteina C Reattiva (PCR) e la velocità di eritrosedimentazione (VES), così come l'emocromo completo, volto alla valutazione delle cellule ematiche.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

R1(Tampone):

Tampone di Good pH 7.4 50 mmol/L

R 2 (Antisiero):

IgG umane aggregate < 0,5 mg/mL

R 3 (Calibratore):

RF valore in etichetta

PREPARAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati oppure Assorbanza (Abs) Bianco Reagente a 340 nm > 0,300 in cuvette da 1 cm contro acqua.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI:

Siero, Plasma da EDTA o da Litio Eparina.

Evitare campioni emolizzati o lipemici. Separare il siero dal coagulo rapidamente. Effettuare un solo scongelamento.

Stabilità: 8 giorni a 2-8° C, 3 giorni a 15-25° C, 3 mesi a -20° C.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 340 nm

Temperatura: +37°C

Bianco: acqua distillata

Pipettare come segue:

Reagente (R1) 1000 µL

Campione / Calibratore /H₂O 50 µL

Miscelare e dopo 60" leggere l'Assorbanza (Abs1). Poi aggiungere:

Reagente (R2) 200 µL

Miscelare, dopo altri 300" leggere ancora l'Assorbanza (Abs2)

Calcolare il Δ Abs (Abs2 – Abs1) per campioni, controlli e calibratori.

CALIBRAZIONE

Il valore del calibratore RF è stato reso tracciabile alla WHO.

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Diluire RF Calibratore (R3) in NaCl 9/L come segue:

Diluizione	1	2	3	4	5	6
CAL (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	--
Fattore	0.0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

Moltiplicare la concentrazione del Calibratore per il corrispondente fattore per ottenere la concentrazione dell'analita corrispondente ad ogni diluizione.

Per evitare le diluizioni manuali del calibratore, è possibile utilizzare

RF CALIBRATION SET – REF: TUC1075 (5 x 1 mL)

un set di calibrazione composto da flaconi di calibratori pre diluiti, con esatto valore indicato in etichetta.

CALCOLO

La seduta analitica non può essere validata se il Δ Abs (Abs2 – Abs1) del Bianco Reagente è > 0,300 a 340 nm in cuvetta da 1 cm di cammino ottico.

Calcolare per ogni campione in esame e per ogni calibratore il Δ Abs (Abs2 – Abs1). Costruire una curva di calibrazione (Δ Abs contro concentrazioni dei singoli calibratori) e su di essa riportare i valori del Δ Abs (Abs2 – Abs1) dei campioni in esame per ricavare le concentrazioni. Per calcoli automatici (previsti dagli analizzatori automatici), il metodo di elaborazione dati consigliato è la Curva SPLINE ma altri metodi possono essere utilizzati (Punto-Punto, Logit-Log 4P, etc.).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare i seguenti prodotti MTD Diagnostics:

Plasma Protein Control Level 1 REF: TUC1040 (3 x 1 mL)

Plasma Protein Control Level 2 REF: TUC1050 (3 x 1 mL)

Il range dei valori dei controlli deve essere valutato come una linea guida potendo esso essere determinato dall'applicazione del metodo o dalla manualità dell'utente o da altri fattori. I valori ottenuti devono essere utilizzati ai fini della valutazione della Precisione del metodo (Ripetibilità). Per la valutazione della Accuratezza del metodo (Riproducibilità) è necessario aderire ad un programma di Valutazione Esterna Qualità' (VEQ) gestito da enti certificati.

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Adulti: fino a 20 UI/mL (WHO)

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

NOTE

- Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.
- La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 27,1; D.S. = 0,57; CV = 2,10%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 65,1; D.S. = 1,17; CV = 1,79%

ACCURATEZZA: Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1,002x - 0,71 \quad \text{con } r = 0,999$$

SENSIBILITA': 3 UI/mL

LINEARITA': 3 – 500 UI/mL.

SPECIFICITA' / INTERFERENZE

Bilirubina fino a 20 mg/dL, Emoglobina fino a 400 mg/dL non interferiscono. Altre sostanze possono interferire.

PRECAUZIONI

R1 ed R2 contengono TRIS BUFFER 100 mmol/L – pH 7.5 - CAS 1185-53-1

H315: Provoca irritazione cutanea

H319: Provoca gravi irritazioni oculari

H335: Può irritare le vie respiratorie

I sieri umani presenti nel preparato sono stati testati con metodi marcati CE e approvati FDA e sono stati trovati negativi per presenza di HBsAg, HIV 1&2, HCV. Tuttavia, poiché non ci sono metodi capaci di assicurare la totale assenza di tali agenti infettanti, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente capace di

trasmettere malattie infettive di ogni tipo, in accordo con le norme di Buona Pratica di Laboratorio.

L'anticorpo presente nel reagente è di origine animale e non è in grado di trasmettere malattie infettive all'uomo. Tuttavia, poiché non ci sono metodi per garantire la totale assenza di tali agenti infettivi o di altri microbi, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente in grado di trasmettere malattie infettive di qualsiasi tipo, in conformità con gli standard della Buona Pratica di Laboratorio.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Il prodotto non è soggetto ad etichettatura secondo le direttive CE o le corrispondenti normative nazionali. Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorché maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

- Bandilla, K.I. and McDuffie, F.C., Arthritis Rheum., 12, 74 (1969)
 Soltys AJ, Axford JS, Sutton BJ. Annals of Rheumatic Diseases 56:285 (1997)
 Moore TL, Dornier RW. Clinical Biochem 26: 75 (1993)
 Shmerling RH, Delbanco TL. The American Journal of Medicine. 91:528 (1991)
 Sager D, Wernick RM, Davey MP. Laboratory Medicine 23:15 (1992)
 Visser H, Cessie S, Vos K, Breedveld F, Hazes JMW. Arthritis & Rheumatism 46: 357 (2002)