

Determinazione semi quantitativa del Fattore Reumatoide nel siero umano. Metodo agglutinazione al lattice.

REF RT1016 R1: 2x2.5 mL + R2: 1x0.5 mL + R3: 1x0.5 mL

METODO E PRINCIPIO

Il RF-latex è un test di agglutinazione su vetrino per il rilevamento qualitativo e semiquantitativo del Fattore Reumatoide (RF) nel siero umano. Le particelle di lattice sono rivestite con IgG di capra e vengono agglutinate quando miscelate con campioni contenenti RF.

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 l'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 (Reagente): Particelle di lattice rivestite con IgG anti-RF umano (da capra).

R2: Controllo Positivo > 8 UI/L

R3: Controllo Negativo.

Il kit contiene i cartoncini di reazione e gli stick monouso per agitare.

STABILITÀ DEI REAGENTI

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza indicata, se conservati come indicato sull'etichetta ed evitando contaminazione, evaporazione ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti. Dopo aver aperto i flaconi, è consigliabile utilizzarli il prima possibile, quindi chiudere immediatamente le bottiglie e conservarle in frigorifero per evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Raccogliere il siero utilizzando provette standard di prelievo. Utilizzare campioni di siero puliti (no emolisi o lipemia) e freschi. Il plasma, il siero lipemico o la contaminazione microbica possono causare risultati errati.

Se il test non può essere eseguito immediatamente, conservare il campione a +2 a +8°C per un massimo di 3 giorni. Per una conservazione più lunga, congelare il siero a -20°C per 3 mesi. Centrifugare i campioni

contenenti precipitato prima di eseguire il test.

PROCEDURA

Test Qualitativo

1. Portare i reagenti e i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Agitare delicatamente il reagente al lattice prima dell'uso.
3. Posizionare una goccia (50 µL) di campione o una goccia (50 µL) di controllo positivo / negativo sul cartoncino di reazione.
4. Aggiungere una goccia del reagente al lattice (50 µL) a ciascun campo di prova. Utilizzare uno stick per diffondere la miscela di reazione sull'intero campo del test.
5. Ruotare il vetrino per 2 minuti, e leggere immediatamente sotto la luce diretta l'eventuale formazione di una agglutinazione.

Test Quantitativo

1. Portare i reagenti e i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Agitare delicatamente il reagente al lattice prima dell'uso.
3. Diluire i campioni con soluzione salina a 1: 2, 1: 4, 1: 8, 1:16
4. Posizionare una goccia (50 µL) di campione diluito o una goccia (50 µL) di controllo positivo / negativo sul cartoncino di reazione.
5. Aggiungere una goccia del reagente al lattice (50 µL) a ciascun campo di prova. Utilizzare uno stick monouso per diffondere la miscela di reazione sull'intero campo del test.
6. Ruotare il cartoncino per 2 minuti, e leggere immediatamente sotto la luce diretta l'eventuale formazione di una agglutinazione.

RISULTATI

Risultati Test Qualitativo

- Una reazione negativa è indicata dalla presenza di una sospensione uniforme e senza agglutinazione.
- Una reazione positiva è indicata da agglutinazione osservabile nella miscela di reazione.

Risultati Test Quantitativo

Il titolo del siero è dato dal prodotto tra il reciproco della massima diluizione che presenta una reazione positiva ed il cut off del test (6 mg/dL).

La concentrazione di RF del siero si trova tra la massima diluizione che mostra una reazione positiva (per esempio 1: 4) e la diluizione seguente che mostra una reazione negativa (per esempio 1: 8).

Per calcolare la concentrazione nel siero, moltiplicare il reciproco della diluizione per 8 UI/L (cut off del test).

Per Esempio:

Ultima diluizione positiva 1:4 4x8 UI/L = 32 UI/L

Prima diluizione negativa 1:8 8x8 UI/L = 64 UI/L

Concentrazione RF è tra 32 e 64 UI/L.

CONTROLLO QUALITÀ

Sieri di controllo normale e patologici di concentrazione nota dovrebbero essere analizzati regolarmente con ciascun gruppo di campioni sconosciuti. Utilizzare il materiale del controllo di qualità di **MTD Diagnostics** incluso nel kit.

I valori ottenuti devono essere utilizzati per la valutazione della Precisione del metodo (Ripetibilità). Per la valutazione della Accuratezza del metodo

(Riproducibilità) è necessario aderire ad un programma di Valutazione della Qualità Esterna (VEQ) gestito da enti certificati.

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Fino a 8 UI/L.

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.

PRESTAZIONI

1. Sensibilità analitica: 8 (6-16) UI / L, nelle condizioni di saggio descritte, testate su materiale di riferimento WHO Reference Material 64/1.
2. Effetto Prozona: nessun effetto rilevato fino a 800 mg/L
3. Specificità diagnostica: 98,8%.
4. I risultati ottenuti con questo reagente non hanno mostrato differenze significative rispetto ai reagenti di riferimento.

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

L'Emoglobina (<1 g /dL), la Bilirubina (<20 mg /dL) e Lipemia (<1000 mg/dL) non interferiscono. Altre sostanze potrebbero interferire.

NOTE

1. Le reazioni positive sono presenti in corso di Artrite Reumatoide, Mononucleosi, Epatite, Sifilide, altre infezioni e nei pazienti anziani. Tuttavia, quando vengono testati dal test quantitativo, la maggior parte di questi campioni fornisce risultati molto bassi.
2. Risultati falsi negativi possono essere dati dai pazienti nelle fasi croniche iniziali o in quelle croniche sub-cliniche.
3. I titoli ottenuti con il lattice non si confrontano con i titoli ottenuti con il test Waaler-Rose. Le differenze nel titolo possono dipendere da una differenza tra i metodi nella capacità di rilevare il Fattore Reumatoide. Reazioni deboli o negative possono verificarsi con presenza di marcato eccesso di antigene (effetto prozona).
4. La sensibilità del test può essere ridotta a basse temperature.
5. I migliori risultati si ottengono a 15-25°C.
6. Con ritardi nella lettura, i risultati possono risultare sovrastimati.
7. Quando il contenuto di RF del siero è eccessivo, l'effetto prozona può provocare reazioni falsamente negative con siero non diluito. Ripetere il test usando 10 µL di campione. In caso di positività, ripetere il test diluendo il campione.
8. L'intensità della reazione di agglutinazione non è indicativa della concentrazione di RF nei campioni testati.
9. La contaminazione batterica di controlli e campioni nonché il congelamento e lo scongelamento dell'antigene (Reagente 1) possono dare risultati falsi positivi.
10. Tracce di detergente nel cartoncino del test possono dare risultati falsi positivi. Lavare i cartoncini usati con acqua distillata prima di riutilizzarli.
11. L'antigene del lattice RF (Reagente 1) non deve essere usato oltre la data di scadenza perché la conservazione prolungata può influire sulla sensibilità della sospensione.

PRECAUZIONI

I sieri umani presenti nel Reagente R2-R3 (controlli) sono stati testati con metodi marcati CE e approvati FDA e sono stati trovati negativi per presenza di HBsAg, HIV 1&2, HCV. 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 capaci di assicurare la totale assenza di tali agenti infettanti o di altri microbi, 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.

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 è classificato ed etichettato 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 allorchè 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 |
| | Numero di catalogo | | Scadenza |
| | Numero di lotto | | Fabbricante |

BIBLIOGRAFIA

- Adams, L.E., Hess, E. J. Amer. Technol. 48 (1978)
 Dito, W. Am. Soc. Clin. Pat. 69, (1976)
 Normausell, D. Immunochemistry 9, (1972)
 Plotz and Singer, Am. J. Med. 22, (1979)