

Determinazione semi-quantitativa del Fattore Reumatoide nel siero secondo Waaler – Rose. Test rapido di agglutinazione.

REF RT1018 R1: 2x2,5 mL + R2: 1x1 mL + R3: 1x1 mL

PRINCIPIO DEL METODO

RF-Waaler Test è un test di agglutinazione rapido basato su una modifica della tecnica Rose-Waaler sviluppata per il rilevamento diretto e la semi-quantificazione del Fattore Reumatoide (FR) nel siero.

Il test viene eseguito aggiungendo una sospensione di globuli rossi di pecora stabilizzati, sensibilizzati con gammaglobuline di coniglio, contro il siero di campioni sconosciuti. La presenza o l'assenza di una visibile agglutinazione, indica la presenza o l'assenza di FR nei campioni.

SIGNIFICATO CLINICO

Il Fattore Reumatoide (FR) è un autoanticorpo, cioè una IgM prodotta dal sistema immunitario in grado di riconoscere e attaccare i tessuti dell'organismo a cui appartiene perché sono erroneamente riconosciuti come estranei. Sebbene il ruolo biologico della FR non sia stato ben chiarito, la sua presenza è un utile indicatore di infiammazione e attività autoimmune. Questo test rileva la presenza di FR nel flusso sanguigno.

Il test FR è un utile supporto per la diagnosi dell'artrite reumatoide (AR). Circa l'80% delle persone con AR ha alti livelli di FR. Tuttavia, l'FR può essere rilevato anche in pazienti con altre malattie, tra cui varie malattie autoimmuni come la sindrome di Sjögren, infezioni batteriche, virali o parassitarie persistenti e, in piccole percentuali (1-5%), può essere rilevata anche in soggetti sani.

La misura del FR può essere richiesta se una persona mostra segni e sintomi di AR. I sintomi comprendono dolore, senso del calore, gonfiore e rigidità mattutina delle articolazioni, presenza di noduli sottocutanei e, negli stadi avanzati della malattia, evidenza radiografica di gonfiore delle capsule articolari e perdita di cartilagine e ossa. Nel caso in cui il test FR fornisca un risultato negativo ma i sintomi persistano, il test deve essere ripetuto.

Infine, FR può essere utilizzato in concomitanza con altri test relativi a varie malattie autoimmuni, come il test anticorpi anti-nucleo (ANA), o altri marker di infiammazione, come la proteina C reattiva (CRP) e la velocità di sedimentazione degli eritrociti (ESR), così come l'emocromo completo, finalizzato alla valutazione delle cellule del sangue

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente R1: Reagente RF-Waaler. Sospensione di globuli rossi ovini stabilizzati in una soluzione salina tamponata, sensibilizzati con IgG di coniglio.

Reagente R2: Controllo Positivo. Siero umano con una attività di circa 25 UI/mL.

Reagente R3: Controllo Negativo. Siero animale con una attività < 5 UI/mL.

Cartoncini di reazione e barrette in plastica sono fornite nel kit.

PREPARAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza indicata, se conservati come indicato sull'etichetta ed evitata la contaminazione, l'evaporazione e l'esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Eliminare il reagente se compaiono segni di deterioramento, come la presenza di particelle e torbidità. Tenere sempre le fiale in posizione verticale. Prima dell'uso mescolare delicatamente per sciogliere gli aggregati che possono essere presenti.

CAMPIONI

Siero fresco. Stabile 7 giorni a 2-8°C o 3 mesi a -20°C.

I campioni con presenza di fibrina devono essere centrifugati prima del test. Evitare campioni di emolizzati o lipemici. Separare rapidamente il siero dal coagulo.

PROCEDURA

Test Qualitativo

1. Consentire a reagenti e campioni di raggiungere la temperatura ambiente. La sensibilità del test può essere ridotta a basse temperature.
2. Dispensare 50 µL di campione e una goccia di ciascun controllo positivo e negativo in cerchi separati sul cartoncino test.
3. Mescolare vigorosamente il reagente Waaler su un miscelatore a vortice prima dell'uso e aggiungere una goccia (50 µL) accanto ai campioni da testare.
4. Mescolare le gocce con una barretta in plastica fornita nel kit, distribuendole su tutta la superficie del cerchio. Utilizzare differenti barrette per ciascun campione.
5. Posizionare il vetrino su un agitatore orbitale meccanico a 80-100 r.p.m. per 2 minuti. Risultati falsi positivi potrebbero verificarsi se il test viene letto oltre i due minuti.

Test Quantitativo

1. Con fisiologica, diluire i campioni 1:2, 1:4, 1:8, 1:16
2. Procedere per ogni diluizione come descritto nel Test Qualitativo.

RISULTATI

Esaminare macroscopicamente la presenza o l'assenza di agglutinazione visibile subito dopo aver rimosso il vetrino dall'agitatore.

Il titolo, in metodo semiquantitativo, è definito come la massima diluizione che ancora mostra un risultato positivo.

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normale e patologico dovrebbero essere analizzati regolarmente con ciascun gruppo di campioni sconosciuti.

Utilizzare i controlli inclusi nel kit.

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Seronegativo.

Dei pazienti con diagnosi clinica di Artrite Reumatoide, circa il 70-80% è sieropositivo per il Fattore Reumatoide.

Risultati positivi sono stati mostrati per quasi tutti i pazienti con varianti di Artrite Reumatoide come la sindrome di Felty o di Sjogren.

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

Sensibilità Analitica: circa 8 UI/mL (6-16) testate contro FR standard tracciabile WHO Reference Material 64/1.

Specificità Diagnostica: 93.6%.

Effetto Prozona: Nessun effetto rilevato fino a 600 UI/mL.

I risultati ottenuti con questo reagente non hanno mostrato differenze significative rispetto ai reagenti di riferimento.

NOTE

1. Applicare le normali precauzioni necessarie per la manipolazione di tutti i reagenti di laboratorio. Sieri contaminati e un tempo di reazione oltre i 3 minuti possono causare un'agglutinazione falsa positiva.
2. La forza dell'agglutinazione non è indicativa di concentrazione nei campioni testati.
3. La sensibilità del test può essere ridotta a basse temperature. I migliori risultati si ottengono a 15-25 ° C.
4. I titoli di FR ottenuti con questo metodo non sono paragonabili con i titoli ottenuti con il test al lattice. Le differenze nel titolo non riflettono una differenza tra i metodi nella capacità di rilevare i fattori reumatoidi.
5. Reazioni positive si possono verificare in patologie diverse dall'artrite reumatoide come la mononucleosi, l'epatite, la sifilide, varie altre infezioni e nei pazienti anziani. Tuttavia, quando vengono quantizzati, la maggior parte di questi campioni fornisce risultati molto bassi.
6. Risultati falsi negativi possono essere dati dai pazienti nelle prime fasi o nelle fasi croniche sub-cliniche della malattia.
7. La contaminazione batterica di controlli e campioni nonché il congelamento e lo scongelamento del reagente possono portare a risultati falsi positivi.
8. Tracce di detersivo sui cartoncini di reazione. Lavare le carte usate prima sotto l'acqua del rubinetto fino a quando tutti i reagenti sono stati rimossi e poi con acqua distillata. Lasciare asciugare all'aria, evitando l'uso di solventi organici in quanto possono compromettere la finitura speciale sul vetrino.

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

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

PRECAUZIONI

Le sostanze presenti nel Reagente 1 e R3 sono di origine animale e non sono in grado di trasmettere all'uomo malattie infettive. 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.

I sieri umani presenti nel Reagente R2 (controllo positivo) 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.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE).

Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si 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, applicando la legislazione vigente.

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 COMPLETA 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

1. Rose, H.M., Ragan, C., Pearce, E. et al. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 68: 1 (1948).
2. Waaler, E. Acta Path. Microbiol. Scand. 17: 172 (1940).
3. Anderson, S.G., Bentzon, M.W., Houba, V. and Krag, P. Bull. Hlth. Org. 42: 311 (1970).
4. Christian, C.L. Rheumatoid Factors in: Laboratory Diagnostic Procedures in the Rheumatic Diseases. 2nd ed. Cohen AS (ed), Little, Brown and Company, Boston. p. 98 (1975).
5. Hughes, G.R.V. Connective Tissue Diseases. 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England (1979).
6. Ball, J. and Lawrence, J.S. Ann. Rheum. Dis. 22: 311 (1963).
7. Jones, W.L. and Wiggins, G.L. Amer. J. Clin. Path. 60: 603 (1973).
8. Waaler, M. and Toone, E.C. Arthritis Rheum. 4: 47 (1961).
9. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests 4th Edition. AACC Press (1995).