

**RefaTex-conf**

ПОДТВЕРЖДАЮЩИЙ ТЕСТ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ РЕВМАТОИДНОГО ФАКТОРА

PT MD 11-38623324-001:2002

## СОСТАВ НАБОРА

Наименование и состав реагентов	Код продукции
	1038R200
<b>Reagent A</b> – взвесь частиц латекса, покрытых синтетическим гамма-глобулином, рН 8,2, азид натрия 0,95 г/л	1 ml
<b>Reagent B</b> – взвесь частиц латекса, покрытых нативным (неагрегированным) Ig, рН 8,2, азид натрия 0,95 г/л	1 ml
<b>Positive Control</b> – синтетический контроль, RF > 3 IU/ml, азид натрия 0,95 г/л	0,100 ml
<b>Negative Control</b> – синтетический контроль, азид натрия 0,95 г/л	0,100 ml
<b>Diluent 0,9 %</b> – хлорид натрия 9 г/л, азид натрия 0,95 г/л	5 ml
<b>Слайд</b>	1 шт.
<b>Палочки для смешивания</b>	100 шт.

**Все реагенты готовы к использованию.****ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод основан на реакции преципитации между ревматоидным фактором (RF), и частицами латекса, предварительно сенсibilизированными агрегированным синтетическим гамма-глобулином.

В случае присутствия RF в образце происходит агглютинация с образованием комплекса «антиген-антитело» в виде преципитата, наблюдаемого макроскопически.

**Чувствительность** теста равна 3 IU/ml.

Подтверждающий тест основан на том, что между ревматоидным фактором и частицами латекса, сенсibilизированными нативным (не агрегированным) Ig не происходит агглютинации, тогда как с другими антииммуноглобулинами, отличными от RF, агглютинация выявляется.

Тест используется в 2-х вариантах: для быстрого выявления RF в цельной сыворотке (качественный вариант) и для определения его титра (полуколичественный вариант).

**ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ**

Реагенты хранить при 2-8°C и использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке.

**ЗАМОРАЖИВАНИЕ НЕ ДОПУСТИМО!****ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Сыворотка. Стабильна при 2-8°C до 48 часов.

Не использовать гемолизированную и липемическую сыворотку.

**ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ**

Дозатор на 10 µl, ротатор, лампа дневного света.

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Набор предназначен только для диагностики **in vitro**.

Контрольные сыворотки, поставляемые в наборе, протестированы на наличие антител к HIV, HCV и HBs-антигену и признаны отрицательными. Возможные остатки реагентов и образцы сыворотки пациентов подлежат уничтожению в соответствии с утвержденными внутрибольничными правилами.

**ХОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ**

Доведите все реагенты до 18-22°C (комнатная температура), тщательно встряхните флаконы с **Reagent A** и **Reagent B** до получения однородной суспензии и обезжирьте рабочую поверхность слайда.

## Качественный тест (скрининг)

### **Микровариант:**

1. Поместите 10  $\mu$ l образца в круг на слайде.
2. Нанесите рядом в тот же круг 10  $\mu$ l **Reagent A** или **Reagent B**.
3. Палочкой тщательно смешайте реагенты, распределите взвесь по всей поверхности круга.
4. Равномерными круговыми движениями вращайте слайд в течение 2 минут так, чтобы смесь медленно вращалась внутри круга.
5. По истечении 2 минут произведите оценку результата реакции.

*При необходимости объем реагентов и образцов можно пропорционально увеличить до 20-50  $\mu$ l.*

### **Макровариант:**

1. Поместите 50  $\mu$ l образца в круг на слайде.
  2. Используя капельницу флакона, поместите рядом в тот же круг 1 каплю **Reagent A** или **Reagent B**.
- Далее действуйте аналогично микроварианту.  
*Для стандартизации процедуры вращения рекомендуется использовать ротатор (80-100 об/мин).*

## Полуколичественный тест (определение титра)

Приготовьте разведения исследуемой сыворотки на **Diluent** или в физрастворе двукратным шагом до 1:128 (можно на слайде).

Далее действуйте аналогично **качественному тесту**.

## **ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ**

Оценку результатов реакции производят исходя из агглютинации в образце частиц латекса **Reagent A** или **Reagent B**.

**Положительный результат** - частицы образуют хлопья, наступает просветление суспензии.

**Отрицательный результат** - сохраняется мутная однородная суспензия.

## **ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

В качественном варианте цельные сыворотки здоровых лиц не дают агглютинации.

Агглютинация только в цельной сыворотке считается слабоположительным, а в разведении 1:2 и выше - положительным результатом.

## **РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ**

У 95 % здоровых лиц содержание RF в сыворотке крови меньше 3 IU/ml.

При таком содержании агглютинация отсутствует - результат отрицательный.

26.11.2013

## **КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Рекомендуется регулярно проводить контроль **Reagent A** и **Reagent B** положительной и отрицательной контрольными сыворотками. Наиболее точные результаты получены  $t > 18^{\circ}\text{C}$ . Оценка результатов позднее 2 минут приводит к ложноположительным результатам.

## **КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ**

Определение РФ имеет большое значение для дифференциации ревматоидного артрита, аутоиммунных и других заболеваний.

Наряду с истинным ревматоидным фактором в сыворотке могут присутствовать и иные антииммуноглобулины.

Дифференциация РФ от этих антииммуноглобулинов имеет большое значение для подтверждения диагноза ревматоидного артрита.

При сочетании отрицательного результата с **Reagent B** с положительным результатом с **Reagent A** в исследуемом образце выявляется **истинный ревматоидный фактор**.

В случае положительных реакций одинакового титра с обоими реагентами выявляются антииммуноглобулины.

При более низких значениях **Reagent A**, чем **Reagent B**, выявляются как антииммуноглобулины, так и ревматоидный фактор.

В ряде случаев ревматоидного артрита реакция может быть отрицательной (серонегативные формы).

Здоровые лица могут давать положительные результаты в 3-5 % случаев. Положительные результаты могут выявляться при инфекционном мононуклеозе, сифилисе, гепатитах и других состояниях. Эти ложноположительные результаты выявляются в очень низких титрах в полуколичественном методе.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Никитин В.Н., Справочник методов иммунологии, Кишинев, "Штиинца", 1982, 295 стр.
2. Лабораторные методы исследования в клинике. Справ./Под ред. В.В. Меньшикова, М. Медицина, 1987 г.
3. Jones W L et al. Amer J Clin Path 1973; 60: 603-610.
4. Waaler W L et al. Arthritis Rheum 1961; 4:47-54. Singer J M et al. Am J Med 1956; 21: 888-982.