

Waler-Rose-DAC

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕВМАТОИДНОГО ФАКТОРА.
ПАССИВНАЯ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИЯ НА СЛАЙДЕ
PT MD 11-38623324-001:2002

СОСТАВ НАБОРА

Наименование и состав реагентов	Код продукции
	1045W100
WR-Reagent – смесь синтетических стабилизированных эритроцитов, pH 8,2, азид натрия 0,95 g/l	1 ml
WR-Positive Control – синтетический контроль, RF ≥ 30 IU/ml, азид натрия 0,95 g/l	0,100 ml
WR-Negative Control – синтетический контроль, азид натрия 0,95 g/l	0,100 ml
Diluent 0,9 % – хлорид натрия 9 g/l, азид натрия 0,95 g/l	5 ml
Слайд	1 шт.
Палочки для смешивания	50 шт.

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

Метод основан на реакции преципитации между синтетическими эритроцитами и ревматоидным фактором (RF) в исследуемом образце.

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

Чувствительность **WR-Reagent** отрегулирована для обнаружения ревматоидных факторов в концентрации не менее 8 IU/ml согласно Международным Стандартам WHO без предварительного разведения образца.

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

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

ЗАМОРАЖИВАНИЕ НЕДОПУСТИМО!**ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

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

При переносе теста на более поздний срок образцы рекомендуется заморозить.

Не использовать гемолизованную и липемическую сыворотку.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Дозатор на 10 μ l, ротатор.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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), аккуратно взболтайте флакон с **WR-Reagent** до получения однородной суспензии и обезжирьте рабочую поверхность слайда.

Качественный тест (скрининг)**Микровариант:**

1. Нанесите 10 μ l цельной сыворотки в круг на слайде.
2. Нанесите рядом в тот же круг 10 μ l **WR-Reagent**.
3. Палочкой тщательно смешайте.
4. Оставьте слайд на ровной поверхности на 2 минуты.
5. По истечении этого времени наклоните слайд под углом 45° и определите наличие или отсутствие видимой агглютинации в течение 1 минуты.

При необходимости объем реагентов и образцов можно пропорционально увеличить до 20-50 μ l.

Макровариант:

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

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Наличие агглютинации - **положительный результат** – означает, что уровень RF в образце равен или более 8 IU/ml.

Отсутствие агглютинации - **отрицательный результат** - означает, что уровень RF в образце менее 8 IU/ml.

Полуколичественный тест

(определение титра)

Согласно **Таблице** приготовьте разведения исследуемой сыворотки в **Diluent** или в глицериновом буфере.

Далее действуйте аналогично **качественному тесту**.

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Качественный тест:

положительный результат

наличие агглютинации (преципитат в виде хлопьев), суспензия просветляется;

отрицательный результат

отсутствие агглютинации (отсутствие преципитата), сохраняется мутная, гомогенная суспензия.

Полуколичественный тест:

Оценку результатов произведите согласно **Таблице**.

При других разведениях учет результатов производится по формуле:

величина титра x 8 IU/ml,

например: в титре 1:8 содержание RF равно:

$8 \times 8 \text{ IU/ml} = 64 \text{ IU/ml}$.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

У взрослых здоровых лиц содержание RF в сыворотке крови меньше 8 IU/ml.

При таком содержании агглютинация отсутствует - результат отрицательный.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется регулярно проводить контроль **WR-Reagent** положительной и отрицательной контрольными сыворотками.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Ревматоидные факторы – это иммуноглобулины с активностью антител (в основном класса IgM). Данные факторы присутствуют у большинства пациентов, страдающих ревматоидным артритом.

Известны различные ревматоидные факторы. Теста, способного одновременно выявить все ревматоидные факторы не существует, поскольку одни RF могут реагировать на IgG человека, другие - на IgG животных, а третьи - на оба типа IgG. Поэтому в дополнение к определению RF методом WR рекомендуется использовать **тест RF-latex**, специфицированный на обнаружение ревматоидных факторов, реагирующих на IgG человека.

ЛИТЕРАТУРА

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

Таблица

Разведение (титр)	1:2	1:4	1:8	1:16	...
Цельная сыворотка, µl	50	-	-	-	-
Diluent , µl	50	50	50	50	50
	→	50 →	50 →	50 →	50 →
Содержание RF в образце (IU/ml)	≥ 16	≥ 32	≥ 64	≥ 124	...