

### USO

Dispositivo medico-diagnostico, in vitro, per la determinazione rapida qualitativa e/o semiquantitativa su card dei Fattori Reumatoidi nel siero (RF) (metodo di Singer modificato). Il test viene eseguito facendo reagire una sospensione di particelle di lattice rivestite con gammaglobuline umane ed il campione di siero da analizzare. Lo sviluppo, o meno, di agglutinazione visibile indica la presenza, o l'assenza di RF nel campione testato.

### CONTENUTO DEL KIT

Codice	Confezione		
S31506	2 flaconi 1 flacone 1 flacone cards	2 x 3 ml 1 x 1 ml 1 x 1 ml 2	Immunoagente Controllo positivo Controllo negativo

### COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

- Immunoagente (RF-Latex):** sospensione stabilizzata di particelle di lattice in polistirene, sensibilizzate con gammaglobuline umane, in soluzione salina tamponata. Contiene sodio azoturo 0,95 g/l
- Controllo positivo:** siero umano con attività equivalente a 25 IU/ml di RF. Contiene sodio azoturo 0,95%
- Controllo negativo:** siero di provenienza animale con attività < 5 IU/ml di RF. Contiene sodio azoturo 0,95%

Gli emoderivati di origine umana sono stati analizzati e riscontrati negativi per la presenza di anticorpi anti-HIV 1-2, anti-HCV e per HBsAg. Tali emoderivati e tutti i campioni biologici impiegati devono essere considerati POTENZIALMENTE INFETTI e, come tali, manipolati secondo la B.P.L.



**ATTENZIONE:** il materiale reagentario presente nel kit contiene sodio azoturo: evitare il contatto con la pelle e/o le mucose

### CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI.

Il contenuto del kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sulle relative etichette, se conservato a 2-8°C ben chiuso, lontano da fonti di luce, evitando accuratamente contaminazioni durante l'uso.  
NON CONGELARE

### PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti sono pronti all'uso.

### RACCOLTA DEL CAMPIONE



Il siero deve essere ottenuto per centrifugazione. I Fattori Reumatoidi nel siero sono stabili 7 giorni a 2-8°C. Per lunghi periodi di stoccaggio è necessario conservare il campione a -20°C: congelare una sola volta

### MATERIALE AGGIUNTIVO

- Micropipette automatiche
- Aggitatore orbitante (100 r.p.m.)
- Contagocce monouso
- Timer
- Soluzione fisiologica (NaCl 0,9%, da utilizzarsi soltanto per la procedura semiquantitativa)

### PROCEDURA OPERATIVA I (test qualitativo)

- Portare i reattivi ed i campioni a temperatura ambiente (Nota 1).
- Risospendere delicatamente il contenuto del flacone di immunoagente: utilizzare il contagocce per omogeneizzare accuratamente il contenuto
- Depositare 1 goccia (50 µL) del campione da testare ed una goccia di ciascun controllo in cerchi separati della card di reazione.
- Aggiungere ad ogni cerchio una goccia dell'immunoagente, vicina al campione da analizzare.
- Mescolare con l'aiuto della bacchetta monouso, stendendo la miscela su tutta la superficie interna del cerchio. Impiegare bacchette diverse per ciascun campione.
- Porre la card sul piano dell'aggitatore orbitante, regolato a 100 r.p.m. per 2 minuti (Nota 2).
- Subito dopo, valutare la presenza o assenza di agglutinazione sotto idonea fonte luminosa.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

**Non reattivo:** sospensione uniforme, senza visibile agglutinazione, simile alla reazione del controllo negativo  
**Reattivo:** agglutinazione visibile macroscopicamente di qualsiasi grado

### PROCEDURA OPERATIVA II (test semi-quantitativo)

- Per ciascun campione dispensare 50 µl di soluzione fisiologica in un cerchio diverso della card
- Relativamente a ciascun campione, aggiungere, al primo cerchio utilizzato, 50 µl di campione ed, utilizzando la stessa punta, mescolare la soluzione fisiologica con il campione mediante ripetute aspirazioni ed espulsioni della miscela reattiva e, quindi, trasferire 50 µl di tale miscela al secondo cerchio (diluizione al raddoppio)
- Continuare con le diluizioni al raddoppio fino al sesto cerchio, ed eliminare 50 µl della miscela da quest'ultimo. Le diluizioni in serie risulteranno, pertanto: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64
- Testare ogni diluizione come descritto nei punti da 4 a 7 della PROCEDURA OPERATIVA I

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La procedura è la medesima riportata per il test qualitativo. Il titolo di RF nel campione viene definito come la più alta diluizione del campione che mostra reattività. La diluizione successiva deve risultare negativa (Nota 3). Qualora la diluizione 1:64 risulti ancora reattiva, ripetere il test iniziando dal campione pre-diluito 1:16. In questo caso utilizzare il controllo negativo diluito 1:50 in soluzione fisiologica al posto della soluzione fisiologica assoluta per effettuare queste nuove diluizioni al raddoppio. Il valore approssimativo della concentrazione di RF (IU/ml) nel campione si ottiene moltiplicando il titolo dell'ultima diluizione reattiva per la minima concentrazione rilevabile (sensibilità analitica).

### CONTROLLO DI QUALITÀ

Si raccomanda l'utilizzo di siero controllo NEGATIVO e POSITIVO per verificare la qualità della procedura analitica. Il controllo positivo deve evidenziare un'agglutinazione evidente: qualora non fosse possibile ottenere i risultati attesi, il kit dovrebbe essere scartato. Ciascun Laboratorio deve stabilire la propria procedura interna di Controllo di Qualità.

### RISULTATI ATTESI<sup>4</sup>

Circa il 70-80% di soggetti con diagnosi accertata di artrite reumatoide risultano sieropositivi per RF. La positività ai test si riscontra anche nella maggior parte dei pazienti affetti da patologie correlate ad artrite reumatoide (sindromi di Sjogren e di Felty). Risultati positivi si riscontrano in meno del 5% della popolazione sana, mentre nei soggetti di età superiore a 60 anni il valore di sieroconversioni raggiungerebbe il 30% circa degli individui.

### CONSIDERAZIONI CLINICHE<sup>5,7</sup>

I Fattori Reumatoidi riscontrati nel siero di pazienti affetti da artrite reumatoide e da altre patologie rappresentano un'ampia varietà di anticorpi (per lo più IgM) diretti contro determinanti presenti sul frammento Fc delle IgG del soggetto stesso (patologia autoimmune). Il test RF possiede un elevato valore predittivo per una diagnosi presuntiva, effettuata su basi anamnestiche e riscontrati clinici obiettivi.

### PRESTAZIONI DEL METODO

- La minima concentrazione rilevabile (sensibilità analitica) è di circa 8 IU/ml (6-16 IU/ml), determinata dopo calibrazione contro standard RF con tracciabilità al Materiale di Riferimento WHO 64/1
- Specificità diagnostica: 98,8%
- Effetto prozona: assente fino a 800 IU/ml di RF
- I risultati ottenuti con la presente procedura analitica non mostrano significative differenze quando correlati a dosaggi effettuati con reagenti di riferimento; sono disponibili, a richiesta, i dettagli relativi a studi di correlazione.
- L'emoglobina (< 10 g/l), la bilirubina (< 20 mg/dl) e la lipemia (< 10 g/l) non provocano interferenze analitiche. Altre sostanze possono interferire nel dosaggio<sup>8</sup>

### LIMITI DEL METODO

- Reazioni positive possono avvenire anche in altre patologie diverse dall'artrite reumatoide, quali la mononucleosi, le epatiti, la sifilide, varie altre infezioni, oppure in soggetti anziani. Qualora si utilizzi la procedura quantitativa, comunque, la maggior parte di tali campioni dimostrano reattività molto bassa.
- Risultati falsamente positivi possono riscontrarsi nei pazienti che presentano la patologia in fase cronica subclinica o iniziale.

### NOTE

- La sensibilità del test si riduce a bassa temperatura. Risultati ottimali si ottengono tra 15-25°C.
- Un ritardo eccessivo nella lettura dei risultati può provocare una sovrastima dell'anticorpo presente.
- I titoli anticorpali ottenuti con metodiche utilizzanti particelle di lattice sensibilizzato possono non correlare con titoli ottenuti utilizzando il metodo di Waaler-Rose. Pertanto, differenze nel valore del titolo potrebbero non riflettere realmente differenze tra i metodi nella relativa capacità di rilevare RF.

### CAUSE DI ERRORE

- Risultati falsamente positivi possono essere provocati da contaminazione batterica dei controlli e o dei campioni, oppure da congelamento e scongelamento dell'immunoagente.
- Tracce di detergente presenti sulle cards possono provocare false positività. Lavare le cards usate inizialmente sotto acqua corrente, fino alla rimozione completa dei reattivi ed, infine, con acqua deionizzata. Lasciar asciugare, evitando l'uso di solventi organici, in quanto questi potrebbero danneggiare la speciale finitura della card.
- L'immunoagente non deve mai essere utilizzato oltre la data di scadenza, poiché una prolungata conservazione potrebbe alterare la sensibilità della sospensione.

### BIBLIOGRAFIA

- Singer, J.M., and Plotz, C.M., *Am. J. Med.* 21: 888 (1956)
- Cristian, C.L., *Rheumatoid Factors* In: Laboratory Diagnostic Procedures in the Rheumatic Diseases 2<sup>nd</sup> ed. Cohen AS (ed), Little, Brown and Company, Boston, p.98 (1975)
- Hughes, G.R.V. *Connective Tissue Diseases* 2<sup>nd</sup> ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England (1979)
- Evan, D.H., *Rheumatoid Arthritis - A Review*. ASCP, Chicago, p.21 (1975)
- Ball, J., and Lawrence, J.S., *Ann. Rheum. Dis.* 22: 311 (1963)
- Jones, W.L., and Wiggins, G.L., *Amer. J. Clin. Path.* 60: 603 (1973)
- Waaler, M., and Toone, E.C., *Arthritis Rheum.* 4:47 (1961)
- Young, D.S., *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4<sup>th</sup> Edition, AACC Press (1995)

### Codici di Riordino:

S31506 FATTORI REUMATOIDI (RF) 100 tet



Bio Plastic Sas - 00100 Roma