

Test di emoagglutinazione su vetrino per la determinazione del fattore reumatoide

PRINCIPIO

La Waaler Rose è un test di emoagglutinazione su vetrino per determinazioni qualitative e semiquantitative di RF nel siero umano. Emazie stabilizzate di pecora e sensibilizzate con IgG di coniglio anti eritrociti di pecora sono agglutinate quando mescolate con campioni contenenti RF.

SIGNIFICATO CLINICO

I fattori reumatoide sono un gruppo di anticorpi diretti verso i determinanti della porzione Fc della molecola dell'immunoglobulina G. Sebbene i fattori si trovano in numerosi disordini reumatoidi, come il Lupus Eritematoso (LE) e la sindrome Sjogren, così come in condizioni non reumatiche, il loro ruolo centrale nella clinica è di utilità e di aiuto nella diagnosi di artrite reumatoide (RA). Uno studio del collegio Americano di reumatologia mostra che l'80.4% dei pazienti con reumatite articolare è positivo al RF.


REATTIVI

- R1** Emazie di pecora stabilizzate e sensibilizzate con IgG di coniglio anti eritrociti di pecora, pH 8.2
- R2** Controllo Positivo tappo rosso: siero umano con concentrazione RF ≥ 30 IU/ml
- R3** Controllo Negativo tappo blu: siero animale
- Slide a 6 divisioni
- Stirrer

CAMPIONI

Siero fresco. Stabile 7 giorni a 2-8°C o 3 mesi a -20°C. Campioni con presenza di fibrina devo essere centrifugati. Non utilizzare campioni fortemente emolitici o lipemici.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

 I componenti di origine umana sono stati testati e trovati negativi per la presenza di HbsAg, HCV e anticorpi HIV (1/2). Tuttavia maneggiare con cautela come potenzialmente infettivi.

Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

CALIBRAZIONE

La sensibilità della Waaler Rose lattice è stata calibrata verso il riferimento internazionale WHO 64/1, siero di artrite reumatoide.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Tutti i componenti sono pronti all'uso, e sono stabili fino alla scadenza stampata sull'etichetta se conservati ben chiusi a 2-8°C e protetti da contaminazione durante l'uso. Non congelare: il congelamento può cambiare la funzionalità del test.

Deterioramento del reattivo: presenza di particelle e torbidità.

PROCEDIMENTO QUALITATIVO

1. Portare i reattivi ed i campioni a 15-25°C. La sensibilità del test può essere ridotta dalle basse temperature.
2. Dispensare 50 µl del campione ed una goccia dei controlli positivi e negativi separatamente nelle zone circolari dello slide.
3. Agitare la WR lattice delicatamente prima dell'uso ed aggiungere una goccia (50 µl) adiacente al campione da testare.
4. Mescolare le gocce con uno stirrer, spandendole per tutta la superficie del cerchio. Utilizzare un differente stirrer per ogni campione.
5. Lasciare immobile il vetrino su una superficie piatta per 2 minuti.
6. Dopo questo tempo, agitare delicatamente il vetrino per una volta inclinandolo di circa 45° dal piano orizzontale e lasciarlo nuovamente su una superficie piatta per 1 minuto ancora.

PROCEDIMENTO SEMIQUANTITATIVO

1. Preparare una serie di diluizioni al raddoppio del campione in soluzione salina 9 g/l.
2. Procedere con ogni diluizione come per il metodo qualitativo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare microscopicamente la presenza o l'assenza di agglutinzioni visibili subito dopo evitando qualunque movimento o torsione del vetrino durante l'osservazione.

La presenza di agglutinazione indica una concentrazione RF uguale o maggiore di 8 IU/ml (nota 1). Il titolo del procedimento semiquantitativo è definito come la diluizione più alta che mostra agglutinazione.

Nota 1

I risultati ottenuti con il metodo Waaler Rose non sono comparabili con quelli ottenuti con il metodo RF. Le differenze nei risultati tra i metodi non rispecchia differenze nella capacità di scoprire i fattori reumatoidi.

CALCOLO

La concentrazione approssimata di RF nel campione è calcolata come segue:

$$8 \times \text{Titolo RF} = \text{IU/ml}$$

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si raccomandano controlli positivi e negativi per monitorare la performance della procedura, così come un campione comparativo per una migliore interpretazione dei risultati.

VALORI DI RIFERIMENTO

Adulti	< 8 IU/ml
--------	-----------

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

1. Sensibilità analitica: 8 (6-16) IU/ml alle condizioni descritte.
2. Effetto prozona: non ci sono effetti prozona fino a 800 IU/ml.
3. Sensibilità diagnostica: 100%
4. Specificità diagnostica: 93.6%

INTERFERENZE

L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 10 g/l.
La bilirubina non interferisce sino alla concentrazione di 20 mg/dl.
Lipemia non interferisce sino alla concentrazione di 10 g/l.







LIMITI DEL TEST

- L'incidenza dei falsi positivi è di circa 3-5%. Pazienti con mononucleosi, epatite, sifilide possono dare risultati positivi.
- La diagnosi non deve essere basata su un singolo test ma deve essere integrata da ulteriori diagnosi diagnostiche.

BIBLIOGRAFIA

Robert W Corner et al. Clinica Acta 1987; 167: 1-21.
Frederick Wolfe et al. Arthritis and Rheumatism 191; 34: 951-960.
Robert H Shmerling et al. The American Journal of Medicine 191; 91: 528-534.
Koritz t N et al. Journal of Immunological Methods. 1980; 32: 1-9.
Assameh S N et al. Journal of Immunological Methods 1980; 34: 205-215.
Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed: AACC Press.

SIMBOLOGIA

-  Consultare istruzioni per l'uso
-  Rischio biologico
-  Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)
-  Limiti temperatura di conservazione
-  Dispositivo medico-diagnostico in vitro
-  Fabbricante

Agglutination latex test on slide for determination of rheumatoid factor

PRINCIPLE

The Waaler Rose test is a slide hemagglutination method for the qualitative and semiquantitative detection of RF in human serum. Stabilized sheep erythrocytes sensitised with rabbit IgG anti-sheep erythrocyte are agglutinated when mixed with samples containing RF.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Rheumatoid factors are a group of antibodies directed to determinants in the Fc portion of the immunoglobulin G molecule. Although rheumatoid factors are found in a number of rheumatoid disorders, such as systemic lupus erythematosus (SLE) and Sjogren's syndrome, as well as in nonrheumatic conditions, its central role in clinic lays its utility as an aid in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA). An study of the "American College of Rheumatology" shows that the 80.4% of RA patients were RF positive.


REAGENTS

- R1** Stabilized sheep erythrocytes sensitised with rabbit IgG anti-sheep erythrocyte, pH 8.2
- R2** Positive control red cap: human serum with a RF concentration ≥ 30 IU/ml
- R3** Negative control blue cap: animal serum
- Slide with 6 divisions
 - Stirrer

SAMPLES

Fresh serum. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C. Samples with presence of fibrin should be centrifuged. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PRECAUTION IN USE

 Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HbsAg, HCV and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

CALIBRATION

The Waaler Rose sensitivity is calibrated against the International RF Reference WHO 64/1 Rheumatoid Arthritis Serum.

STORAGE AND STABILITY

All the kit components are ready to use, and will remain stable until the expiration date printed on the label, when stored tightly closet at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not freeze: frozen reagents could change the functionality of the test

Reagents deterioration: presence of particles and turbidity.

QUALITATIVE PROCEDURE

1. Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
2. Place 50µl of the sample and one drop of each positive and negative controls into separate circles on the slide test.
3. Swirl the WR reagent gently before using and add one drop (50 µl) next to the sample to be tested.
4. Mix the drop with a stirrer, spreading them over the entire surface of the circle. Use different stirrer for each sample.
5. Let the slide undisturbed on a flat surface for 2 minutes.
6. After this time, twist very carefully the slide once to about 45° from the horizontal and let the slide again to stay on a flat surface for 1 minute more.

SEMIQUANTITATIVE PROCEDURE

1. Make serial two fold dilutions of the sample in 9 g/l saline solution.
2. Proceed for each dilution as in the quantitative method.

READING AND INTERPRETATION

Examine macroscopically the presence or absence of visible agglutination immediately avoiding any movement or lifting the slide during the observation. The presence of visible agglutination indicates a RF concentration equal or greater than 8 IU/ml (note 1)

Note 1

Results obtained with a Waaler Rose method do not compare with those obtained with RF latex method. Differences in the results between methods do not reflect differences in the ability to detect rheumatoid factors.

CALCULATIONS

The approximate RF concentration in the patient sample is calculated as follows:

$$8 \times \text{RF Titer} = \text{IU/ml}$$

QUALITY CONTROL

Positive and negative controls are recommended to monitor the performance of the procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation.

REFERENCE VALUES

Adults	< 8 IU/ml
--------	-----------

Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Analytical sensitivity: 8 (6-16) IU/ml under the described assay conditions.
2. Prozone effect: no prozone effect was detected up to 800 IU/ml.
3. Diagnostic sensitivity: 100%
4. Diagnostic specificity: 93.6%

INTERFERENCES

Hemoglobin does not interfere up to concentration of 10 g/l. Bilirubin does not interfere up to concentration of 20 mg/dl. Lipemia does not interfere up to concentration of 10 g/l.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- The incidence of false positive results is about 3-5%. Individuals suffering from infectious mononucleosis, hepatitis, syphilis as well as elderly people may give positive results.
- Diagnosis should not be solely based on the results of Waaler Rose method but also should be complemented with a RF-Latex test along with the clinical examination.

NOTES

Result obtained with a Waaler Rose method do not compare with those obtained with RF-latex method. Differences in the results between methods do not reflect differences in the ability to detect rheumatoid factors.

BIBLIOGRAPHY

- Robert W Dorner et al. Clinica Chimica acta 1987; 167: 1-21.
 Frederick Wolfe et al. Arthritis and Rheumatism 1991; 34 : 951-960.
 Robert H Shmerling et al. The American Journal of Medicine 1991; 91:528 – 534.
 Koritz T N et. Journal of Immunological Methods. 1980; 32; 1-9.
 Assameh S N et al. Journal of immunological Methods 1980; 34: 205-215.
 Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed AACC Press, 1995.

SYMBOLS



Red instruction for use



Biological risk



CE mark (requirement of 98/78 CE regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer