

## 1. Cel i obszar zastosowania

Jakościowe wykrywanie czynników reumatoidalnych - RF.

## 2. Znaczenie diagnostyczne

Czynniki reumatoidalne są grupą przeciwciał, które są skierowane przeciwko determinantom we fragmencie FC cząsteczek immunoglobuliny klasy G. Chociaż czynniki reumatoidalne mogą występować przy szeregu chorób reumatycznych, takich jak toczeń rumieniowaty układowy (SLE), zespół Sjögrena, jak również przy schorzeniach niereumatycznych, ich główne znaczenie służy jako pomoc w diagnozie reumatycznego zapalenia stawów (RA). Badania przeprowadzone przez Amerykański College ds. Reumatologii wskazują, że 80,4% pacjentów z RA zostało także przetestowanych z wynikiem pozytywnym na RF.

## 3. Zasada działania testu

Test Waaler Rose jest testem hemaglutynacji do jakościowego i półilościowego wykrywania RF w ludzkiej surowicy. Ustabilizowane erythrocyty owcze uczulone przeciwciałami IgG erythrocytów owczych wytworzonych przez królika, pH 8,2, azydek sodu 0,95 g/L.

## 4. Części składowe zestawu

<b>Waalera Rose</b>	Ustabilizowane erythrocyty owcze uczulone przeciwciałami IgG erythrocytów owczych wytworzonych przez królika, pH 8,2, azydek sodu 0,95 g/L
<b>Kontrola +</b> Czerwona nakrętka	Surowica ludzka z koncentracją RF $\geq 30$ IU/mL. Azydek sodu 0,95 g/L.
<b>Kontrola -</b> Niebieska nakrętka	Surowica zwierzęca. Azydek sodu 0,95 g/L.

## 100 testów:

- 5 mL Waalera Rose
- 1 mL kontrola +
- 1 mL kontrola -
- 16 x 6 jednorazowe szkiełko mikroskopowe

## 5. Data ważności i przechowywanie

Wszystkie części składowe zestawu są gotowe do użycia i pozostają stabilne do daty ważności wydrukowanej na opakowaniu, o ile są przechowywane w szczelnym zamknięciu oraz jeżeli unika się wszelkich zanieczyszczeń i przechowywane się je w temperaturze 2-8°C.

Nie zamrażać: zamrożone odczynniki mogą negatywnie wpływać na funkcjonowanie testu.

**Pogorszenie działania odczynników:** obecność cząsteczek i zmętnienie.

## 6. Ostrzeżenia i środki ostrożności

Części składowe pochodzenia ludzkiego zostały przetestowane na HBsAg, HCV oraz przeciwciała przeciwko HIV (1/2) i określone jako negatywne. Mimo tego wszystkie części składowe powinny być traktowane jako potencjalnie zainfekowane.

## 7. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

### Przechowywanie próbek

Świeża surowica. Przy przechowywaniu w temperaturze 2-8°C stabilna przez 7 dni, natomiast w temperaturze -20°C przez 3 miesiące. Próbkę, która zawiera fibrynę powinny zostać odwirowane. Nie należy używać wysoko zhemolizowanych lub lipemicznych próbek.

## 8. Przeprowadzanie testu

### Kalibracja

Czułość Waalera Rose została skalibrowana według Międzynarodowej Rekomendacji RF Światowej Organizacji Zdrowia 64/1 Surowicy Reumatycznego Zapalenia Stawów.

### Badanie jakościowe

- 1) Wszystkie odczynniki i próbki doprowadzić do temperatury pokojowej. Niska temperatura może negatywnie wpływać na czułość testu.
- 2) 50  $\mu$ L próbki i kroplę kontroli pozytywnej i negatywnej nanieść na różne pola na szkiełku mikroskopowym.
- 3) Przed użyciem należy odczynnik latex RF lekko odwirować i dodać kroplę (50  $\mu$ L) obok próbki przeznaczonej do testowania.
- 4) Krople wymieszać za pomocą mieszadełka i rozprowadzić po całej powierzchni danego pola. Do każdej próbki należy używać nowych mieszadełek.
- 5) Szkiełko mikroskopowe umieścić na płaskiej powierzchni na 2 minuty.

- 6) Po upływie tego czasu szkiełko mikroskopowe przechylić o ok. 45°. Następnie ponownie pozostawić szkiełko mikroskopowe na płaskiej powierzchni przez ok. 1 minutę.

### Badanie półilościowe

- 1) Sporządzić podwójne rozcieńczenie próbki w 9 g/L roztworu soli kuchennej.
- 2) Przeprowadzić badanie dla każdego rozcieńczenia tak jak w punkcie „Badanie jakościowe”.

## 9. Interpretacja wyników

Sprawdzić szkiełko mikroskopowe natychmiast po przeprowadzeniu badania pod kątem występowania bądź braku widocznej aglutynacji.

**Uwaga:** Jeżeli aglutynacja jest słabo widoczna, ocena testu powinna być dokonana przy silnym źródle światła i za pomocą lupy.

Należy unikać wszelkiego poruszania i podnoszenia szkiełka mikroskopowego podczas obserwacji. Obecność widocznej aglutynacji wskazuje na koncentrację RF równą bądź wyższą niż 8 IU/mL.

Miano w metodzie półilościowej jest zdefiniowane jako najwyższy poziom rozcieńczenia, który wskazuje na wynik pozytywny.

### Obliczenia

Przybliżoną koncentrację RF w próbce oblicza się następująco:  
 $8 \times \text{miano RF} = \text{IU/mL}$

### Punkt odniesienia

Do 8 IU/mL. Każde laboratorium powinno ustalić własny punkt odniesienia.

## 10. Kontrola jakości

Użycie kontroli pozytywnej i negatywnej jest zalecane w celu sprawdzenia prawidłowego przebiegu testu i lepszej interpretacji wyników za pomocą wzorca porównawczego.

## 11. Ograniczenia testu

- 1) Wyniki fałszywie pozytywne występują w około 3-5% przypadków. U osób chorujących na mononukleozę zakaźną, hepatitis lub syfilis, jak również u osób starszych mogą wystąpić wyniki pozytywne.
- 2) Diagnostyka końcowa nie powinna opierać się wyłącznie na wynikach testu Waalera Rose, lecz powinna zostać uzupełniona przez test RF i badanie kliniczne.

### Interferencje

Hemoglobina (10 g/L), bilirubina (20 mg/dL) i lipemia (10 g/L) nie mają wpływu na przeprowadzenie testu. Inne substancje mogą wpływać na funkcjonowanie testu<sup>6</sup>.

## 12. Charakterystyka testu

- 1) **Czułość analityczna:** 8 (6-16) IU/mL pod opisanymi warunkami badania.
- 2) **Efekt prozyny:** do 800 IU/mL efekt prozyny może się nie pojawić.
- 3) **Czułość diagnostyczna:** 100 %.
- 4) **Swoistość diagnostyczna:** 93,6 %.

## 13. Bibliografia

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

Ref.: 2012-06-15 AM