



Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення кількості ревматоїдного фактору
в сироватці та плазмі крові
РФ-турбі СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Принцип методу

РФ-турбі є кількісним турбідиметричним тестом для вимірювання РФ в людській сироватці або плазмі. В основі визначення лежить реакція антиген-антитіло. Людський гамаглобулін, що адсорбований на нейтральних частинках латексу, вступає в реакцію аглютинації з дослідними зразками, що містять РФ. Величина вимірюваної оптичної щільності залежить від концентрації РФ в пробі. В результаті реакції утворюється суспензія, каламутність якої вимірюється фотометрично.

Клінічне значення

Ревматоїдний фактор (РФ) – аутоантитіла IgG, IgM або IgA, що реагують з Fc-фрагментом IgG. Він утворюється в результаті стимуляції агрегованим модифікованим (видозміненим) IgG або за рахунок екзогенного перехресно реагуючого антигену при порушенні імунорегуляції. Комплекс IgG+РФ не фагоцитується, відкладається в периваскулярному просторі, стимулюючи клітинно-опосередковані цитотоксичні реакції, що призводить до появи запалення.

Підвищення рівню РФ характерно для ревматоїдного артриту (до 90% хворих), але можливі серонегативні форми. Підвищення титру РФ відзначається не раніше чим через 6-8 тижнів після клінічних проявів. РФ в більш низьких титрах може відзначатися при інфекційному мононуклеозі, гострих запальних процесах (бактеріальний ендокардит, сифіліс, туберкульоз, кір, краснуха, грип та ін.), вовчаку з ураженням суглобів, синдромі Шегрена, саркоїдозі, гепатиті, системній склеродермії, поліміозиті.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. **Реагент 1.** Розчинник: тріс-буфер рН 8.2 - 20 ммоль/л.
2. **Реагент 2.** Латексна суспензія.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Додаткові реагенти

Калібратор РФ та контролі (2 рівня) РФ постачається окремо.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 8-160 МОд/мл. Зразки з більш високою концентрацією, слід розбавити 1:5 в (6 разів) NaCl 9 г/л та помножити результат на шість. Межі лінійності залежать від співвідношення проби та реактиву, а також від використовуваного аналізатора. Лінійність буде зростати, шляхом зменшення об'єму зразка, хоча чутливість тесту буде пропорційно зменшуватись.

Відхилення від лінійності не перевищує 6 %.

2. Чутливість не менш 8 МОд/мл.

3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 6 %.

Матеріал для дослідження

Свіжа сироватка крові та плазма. Досліджувані сироватки повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або фотометричне термостатуюче обладнання з довжиною хвилі 650 нм
- Лазня з термостатом з температурою 37°C.
- Загальне лабораторне обладнання.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Перед використанням перемішайте Р2 легким зтрушуванням флакону.

Калібратор РФ: Додати 2 мл дистильованої води. Обережно перемішати, витримати при кімнатній температурі протягом 10 хвилин перед використанням. РФ калібратор стабільний протягом 1 місяця при температурі 2-8°C або 3 місяці при -20°C.

Калібрувальна крива: Компоненти для реакційної суміші для побудови графіку відібрати в кількостях, вказаних в таблиці.

Помножити концентрацію калібратора РФ на відповідний фактор, зазначений в таблиці нижче, щоб отримати концентрацію РФ кожного розведення.

	1	2	3	4	5	6
Калібратор РФ, мкл	-	25	50	100	200	400
NaCl 9 г/л, мкл	400	375	350	300	200	-
Фактор	0	0.0625	0.125	0.25	0.5	1.0

Проведення аналізу

Доведіть робочий реагент і фотометр (утримувач кювети) до 37°C.

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 650 нм (600-650) нм

кювета з товщиною оптичного шару 1 см

температура 37°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

	Холостий зразок	Калібратор /Дослідний зразок
Р1, мл	0.8	0.8
Р2, мл	0.2	0.2
Перемішати та виміряти абсорбцію холостого зразку		
NaCl 9 г/л, мкл	7	-
Калібратор/зразок, мкл	-	7

4. Перемішати та виміряти абсорбцію дослідних зразків та калібраторів точно через 2 хв. відносно холостого зразку

Прим. Об'єми реагенту, зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

Розрахунок результатів

Побудувати калібрувальну криву. Концентрація РФ у зразку обчислюється по калібрувальній кривій.

Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальний рівень РФ в сироватці або плазмі крові становить:

для дорослих до 12 МОд/мл

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «SPINTROL N, P» («SPINREACT», Іспанія), «ERBA NORM, PATH» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.



Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.