УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ № _____

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»
_____ А.Г. Плехов
«14» _____ 2023 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения ревматоидного фактора
в сыворотке крови методом латекс-агглютинации

(РФ-Латекс-ВИТАЛ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов РФ-Латекс-ВИТАЛ предназначен для быстрого выявления клинически значимого уровня ревматоидного фактора (РФ) в сыворотке крови, а также полуколичественной оценки его содержания методом латекс-агглютинации, в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Ревматоидный фактор представляет собой группу антител, в основном, принадлежащих к классу IgM и направленных против Fc-фрагментов собственных IgG пациентов. РФ обнаруживается в сыворотке крови 70-80% больных с ревматоидным артритом, а также с другими ревматическими заболеваниями, например, с синдромом Фелти или Сьогрена (Шегрена). Определение РФ имеет большое значение для подтверждения клинического диагноза, поставленного на основе данных клинического обследования, а также для оценки хода течения и тяжести заболевания.

Набор рассчитан для проведения 125 или 250 определений при расходе 0,02 мл реагента 1 на один анализ.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода

При смешивании суспензии латексных частиц, покрытых человеческим гамма-глобулином, с образцом сыворотки крови наблюдается видимая агглютинация, если в образцах присутствует ревматоидный фактор.

Состав набора:

Вариант 1

- реагент 1: РФ-латекс {глициновый буфер [глицин, натрия гидроокись, кислота соляная; 50 ммоль/л] pH 8,2; латекс, связанный с человеческим гамма-глобулином, 1,1%; натрия азид, 0,95 г/л}, готов к использованию – 1 флакон (2,5 мл) или 2 флакона (по 2,5 мл);
- реагент 2: разбавитель [натрия хлорид, 154 ммоль/л], готов к использованию – 1 флакон (5 мл);
- Контроль (+): положительная контрольная проба на основе сыворотки крови человека, содержащая не менее 25 МЕ/мл РФ, с добавлением натрия азида, 0,95 г/л, готов к использованию – 1 флакон (0,5 мл);
- Контроль (-): отрицательная контрольная проба на основе сыворотки крови с содержанием РФ не более 5 МЕ/мл, с добавлением натрия азида, 0,95 г/л, готов к использованию – 1 флакон (0,5 мл).
- тест-пластины, готовы к использованию – 3 или 5 шт.

Вариант 2

- реагент 1; реагент 2; положительный контроль; отрицательный контроль; тест-пластины – аналогично составу по Варианту 1;
- одноразовые мешалки для перемешивания 125 или 250 проб.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Минимальное определяемое значение РФ (аналитическая чувствительность) установлено по международному референтному материалу ВОЗ (NIBSC) и составляет 8 (6-16) МЕ/мл.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормой является отрицательная реакция; положительный результат может наблюдаться менее чем у 5% взрослых здоровых людей. Однако более 30% пациентов в возрасте от 60 лет и старше могут быть серопозитивными при использовании латексных тестов для определения ревматоидного фактора.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Положительная реакция может наблюдаться не только при ревматоидном артрите, но и при различных инфекционных заболеваниях, например, при мононуклеозе, сифилисе, а также у пожилых пациентов. При проведении количественного теста в большинстве из этих образцов определяются низкие значения РФ.

Ложно отрицательные реакции могут появляться у пациентов в ранней или в субклинической хронической фазе заболевания.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности - соблюдение «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г).

При работе с набором необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. кровь человека является потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Пипетки полуавтоматические одноканальные, позволяющие отмерять объемы жидкости 10 мкл, 20 мкл, 25 мкл, 50 мкл и 500 мкл;
- секундомер;
- механический ротатор (шейкер), обеспечивающий 100 оборотов в минуту (использование не является обязательным);
- палочки стеклянные или пластмассовые шпатели (при комплектации набора по Варианту 1);
- пробирки вместимостью 1,5-3,0 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови человека.

Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2-8°С не более 2 сут; при необходимости более длительного хранения (до 3 мес) – при температуре минус 20°С и ниже. Повторное замораживание образцов не допускается.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови выдержать при комнатной температуре (18-25°С) в течение времени не менее 30 мин.

Реагент 1, реагент 2, контрольные пробы готовы к использованию. Перед началом работы осторожно перемешать содержимое флакона с реагентом 1, переворачивая закрытый флакон несколько раз.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Качественный тест

Приготовить одну тест-пластину (слайд). Нанести 1 каплю (20 мкл) анализируемой сыворотки на один из черных кругов на пластине и по 1 капле (20 мкл) отрицательной и положительной контрольных проб на два других круга.

Добавить по 1 капле (20 мкл) реагента 1 в каждый круг рядом с каплей тестируемого материала и перемешать содержимое каждого круга с помощью чистой сухой стеклянной палочки или шпателя, распределяя жидкость по всей поверхности круга внутри кольца. Для каждого образца необходимо использовать отдельную палочку (шпатель). При работе с набором в комплектации по варианту 2 для перемешивания используются одноразовые мешалки из набора.

Вращать слайд в течение 2 минут с помощью ротатора (шейкера) с орбитальной скоростью 100 об./мин или, держа слайд в руке в горизонтальном положении, перемешивать пробы вращательными движениями 2 минуты (точно!). Немедленно по окончании инкубации считывать результат реакции агглютинации при достаточном освещении.

Полуколичественный тест

Для выполнения полуколичественного теста необходимо приготовить разведения пробы сыворотки.

1. Приготовить и промаркировать соответствующим образом 4 пробирки.
2. Внести по 50 мкл реагента №2 автоматическим дозатором в три пробирки, в четвертую пробирку – 25 мкл.
3. В первую пробирку добавить 50 мкл анализируемой сыворотки и, используя тот же наконечник, перемешать с реагентом №2, набирая и выпуская жидкость, затем перенести 50 мкл смеси в третью пробирку и перемешать.
4. Во вторую пробирку добавить 25 мкл анализируемой сыворотки и, используя тот же наконечник, перемешать с реагентом №2, как указано выше. Перенести 25 мкл смеси в четвертую пробирку с реагентом №2 и перемешать.

Полученные разведения (титры) анализируемой сыворотки будут следующие: 1:2, 1:3, 1:4, 1:6.
Далее провести качественный тест для каждого разведения.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Визуальная. Фотометрическое измерение не применяется.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Качественный тест

Отрицательная реакция:
Однородная суспензия без видимой агглютинации, как с отрицательным контролем.

Положительная реакция:
Любая видимая степень агглютинации.

Полуколичественный тест

Аналогично качественному тесту (см. выше). Титр образца определяется как наибольшее разведение, при котором наблюдается реакция агглютинации. Более высокое разведение должно быть отрицательным.

Если наибольшее разведение дает реакцию, необходимо повторить тест, начиная с предварительного разведения 1:16, причем для приготовления новой серии 2-кратных разведений следует использовать не реагент №2, а Контроль (-), разбавленный физиологическим раствором в соотношении 1:50.

Примерный уровень РФ (МЕ/мл) может быть получен путем умножения титра образца на величину минимальной определяемой концентрации (аналитическая чувствительность).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Singer, J.M., Plotz, C.M. Am. J. Med. 21: 888 (1956).
2. Ball, J., Lawrence, J.S. Ann.Rheum. Dis. 22: 311 (1963).
3. Jones, W.L. and Wiggins, G.L. Amer. J. Clin. Path. 60: 603 (1973).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Waaler, M., Toone, E.C. Arthritis Rheum. 4: 47 (1961).
5. Evan, D.H. Rheumatoid Arthritis-A Review. ASCP, Chicago. p.21 (1975).
6. Christian, C.L. Rheumatoid Factors in: Laboratory Diagnostic Procedures in the Rheumatic Diseases. 2nd ed. Cohen AS (ed), Little, Brown and Company, Boston. p. 98 (1975).
7. Hughes, G.R.V. Connective Tissue Diseases. 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England (1979).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°С в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25°С не более 5 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагент 1, реагент 2 и Контроль (-) после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°С в темном месте в течение всего срока годности набора.

Контроль (+) после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2-8 °С не более 1 мес.

Необходимо ежедневно проводить качественный тест с положительной и отрицательной контрольными пробами для проверки реакционной способности реагента №1. Контроль (+) должен давать ясную агглютинацию, если четкой агглютинации нет, использовать набор нельзя.

Тест-пластины рассчитаны на многократное использование. Остатки моющих средств на тест-пластинах могут приводить к ложно положительным результатам, поэтому после проведения тестов необходимо мыть пластины водопроводной водой до удаления всех реагентов, затем – дистиллированной водой, сушить на воздухе. Не следует использовать органические растворители, поскольку они могут повредить специальное покрытие пластин.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в АО “Витал Девелопмент Корпорэйшн” по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 250-55-10, 8(800) 200-23-24.

и на кафедру КЛД ГБОУ ДПО РМАПО Минздравсоцразвития России по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» А.Г. Плехов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru