



Инструкция и адаптационная методика по применению набора «Ревматоидный фактор»

Клиническое значение:

Ревматоидный фактор - это антитела против антигенных детерминант Fc-фрагмента IgG. РФ обнаруживают при аутоиммунных ревматических заболеваниях и при неревматических состояниях, например, системной красной волчанке, синдроме Шегрена, болезни Вальденстрема, саркаидозе. Высокий РФ более специфичен для диагностики ревматоидного артрита.

Диагноз не должен быть поставлен на результатах одного теста, а на совокупности клинических симптомов и других исследований.

Принцип метода:

Количественное определение ревматоидного фактора основано на реакции агглютинации между находящимся в образце РФ и человеческими гамма-глобулинами, покрывающими латексные частички реагента. Степень агглютинации зависит от концентрации РФ в образце и вызывает пропорциональное изменение оптической плотности. Концентрация РФ в образце определяется фотометрически относительно калибровочной кривой.

Набор предназначен для использования на ручных, полуавтоматических и автоматических биохимических анализаторах.

Состав набора*:

Реагент 1	Реагент 2	Калибратор РФ	Контроль РФ
Буфер, pH 8.2 Консервант	Буфер, pH 7.4 Латексные частицы, покрытые человеческим гамма-глобулином Консервант	Концентрация РФ в калибраторе указана на этикетке	2 уровня концентраций.
48 мл	12 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика	
96 мл	24 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика	
120 мл	30 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика	
200 мл	50 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика	
320 мл	80 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика	

* - объем реагентов во флаконе и количество флаконов может варьироваться в зависимости от каталожного номера.

По желанию заказчика набор может поставляться без калибровочного и контрольного материала.

Подготовка реагентов к применению и их стабильность:

Запечатанные флаконы стабильны до окончания срока годности при хранении при 2-8°C (18 месяцев от даты производства).

Реагент 1 и Реагент 2 готовы к применению. Реагент 2 перед применением необходимо аккуратно перемешать, чтобы раствор стал однородным. После вскрытия флакона стабильны при температуре от 2°C до 8°C в течение трех месяцев. Реагенты не замораживать.

Для приготовления калибратора РФ во флакон добавляют 2 мл дистиллированной воды за 10 минут до применения.

Для приготовления контролей РФ во флакон добавляют 1 мл дистиллированной воды за 10 минут до применения.

После растворения стабильны при температуре от 2°C до 8°C в течение 1 месяца или при минус 20°C в течение 3 месяцев.

Признаки непригодности реагентов для применения:

- наличие в растворе реагента 1 мутности.

Меры предосторожности: Реагенты, входящие в состав набора, предназначены только для диагностики *in vitro*.

Не принимать внутрь.

Калибратор РФ и Контроль РФ содержат сыворотку человека, которая проверена на отсутствие HBsAg, HCV, антител к ВИЧ (1/2). Однако при работе с ними необходимо обращаться как с потенциально опасными веществами.

Все компоненты в используемых концентрациях не токсичны. При работе с наборами реагентов следует применять средства индивидуальной защиты согласно ГОСТ 12.4.103. Допускаются к применению перчатки медицинские одноразовые и халаты медицинские, отвечающие действующим ТНПА Республики Беларусь и имеющие документы, подтверждающие качество и безопасность в области применения.

При работе с наборами следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СНиП «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 2 от 6 января 2017 г.

Утилизация не использованных либо с истекшим сроком годности реагентов проходит в соответствии с СНиП «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь №14 от 7 февраля 2018 г.

Образцы и их стабильность: Негемолизированная и нелипемическая сыворотка крови. Образцы стабильны 72 часа при температуре от 2°C до 8°C или 3 месяца при минус 20°C.

Методика для ручных и полуавтоматических анализаторов.

Необходимое, но не предоставляемое оборудование:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 650 нм и длиной оптического пути 1 см;

- дозаторы с наконечниками, позволяющие отбирать 0,007 мл, 0,2 мл, 0,8 мл, 0,004 мл, 0,1 мл, 0,4 мл;

- секундомер.

Ход анализа (ручная методика):

Условия проведения анализа:

- длина волны – 650 нм (600 -650);

- длина оптического пути – 1 см;

- температура - 37°C;

Анализатор обнуляют относительно дистиллированной воды.

Реагенты прогревают до температуры проведения анализа.

Внести в кювету	Макрометод	Полумикрометод
Реагент 1, мл	0,8	0,4
Реагент 2, мл	0,2	0,1
Смешать и измерить оптическую плотность A ₁ . Затем добавить калибратор/образец.		
Калибратор, мл/ Образец, мл	0,007	0,004

Перемешивают и измеряют оптическую плотность A₂ каждой смеси ровно через 2 минуты после добавления образца.

Результаты: Для каждого образца и калибратора рассчитывают ΔA = A₂ - A₁. Концентрацию РФ в образце находят по калибровочной кривой.

Построение калибровочной кривой:

Из калибратора РФ готовят серию калибровочных растворов путем разведения физиологическим раствором (раствор хлорида натрия 9 г/л) согласно следующей таблице:

Разведение	1	2	3	4	5	6
Калибратор, мл	-	0,025	0,050	0,100	0,200	0,400
Физраствор	0,400	0,375	0,350	0,300	0,200	-
Фактор	0	0,0625	0,125	0,25	0,5	1,0

Для получения концентрации РФ после каждого разведения, необходимо концентрацию калибратора, указанную на этикетке и в сопроводительных документах умножить на фактор.

Каждый из калибровочных растворов анализируется, как описано выше. По результатам анализа строится калибровочная кривая.

Контроль качества:

Контроль качества измерений проводится с использованием контрольного материала двух уровней. При непрохождении контролей проводится перекалибровка. После перекалибровки следует снова протестировать контроли. В случае непрохождения контроля качества после перекалибровки, необходимо проверить исправность анализатора и наличие признаков непригодности реагентов.

Каждая лаборатория проводит контроль качества согласно своей утвержденной схеме.

Рекомендуем применять для контроля качества контрольный материал, входящий в состав набора, контроль специфических белков производства Randox (Великобритания), Spingeaest (Испания), Comay (Польша).

Референсные значения: ≤ 20 МЕ/мл.

Приведенные референсные значения ориентировочные: каждая лаборатория должна сама устанавливать свои референсные значения.

Интерференция:

Билирубин >342 мкмоль/л, липемия > 10 г/л, гемоглобин > 10 г/л.

*Аналитические характеристики:

Чувствительность: 6 МЕ/мл.

Линейность: до 160 МЕ /мл (зависит от концентрации калибратора).

Если концентрация РФ в образце превышает 160 МЕ /мл, то образцу необходимо разбавить раствором хлорида натрия (9 г/л) в соотношении 1:4, а полученный результат умножить на 5.

Эффект прозоны не наблюдается до 800 МЕ /мл.

Точность:

	Воспроизводимость внутри серии		Воспроизводимость межсерийная	
	19,6	57,9	20,3	56,3
Среднее (МЕ /мл)				
SD	0,902	2,432	0,974	2,534
CV, %	4,6	4,2	4,8	4,5
n	10	10	10	10

Корреляция: 50 образцов было проанализировано с использованием Набора реагентов для определения РФ (производства «Диагенс») и другим набором реагентов, внесенным в Реестр средств медицинского назначения РБ.

Коэффициент корреляции: 0,99.

*Данные получены при использовании полуавтоматического анализатора, для других анализаторов они могут отличаться.

Копирование и передача третьим лицам запрещены!

По вопросам методической помощи и закупки обращаться по телефонам: 8017-300-65-11; 8017-320-65-10