

СР	7042/2007
	11.10.2012

Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.

Інструкція

з використання діагностикуму для виявлення
ревматоїдного фактору в сироватці крові людини

РФ - латекс-тест

P1	2 мл
P2	14 мл
P3	0.2 мл
P4	0.2 мл

IN VITRO

Зберігати при 4-10°C

Принцип методу

У наданому діагностикумі використовується принцип латексної аглютинації. Антиген (людський гамма-глобулін), що адсорбований на нейтральних частинках латексу, вступає в реакцію аглютинації з ревматоїдним фактором (Ig M проти Fc-фрагменту Ig G).

Інтенсивність аглютинації прямо пропорційна кількості РФ.

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 фагоцитуються, відкладається в периваскулярному просторі, стимулюючи клітинно-опосередковані цитотоксичні реакції, що призводить до появи запалення.

Найбільше клінічне значення має визначення РФ IgM, що може визначатися в реакції латексної аглютинації.

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 відзначитися 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.

Склад набору

1. Реагент 1. Латексна суспензія, 2 мл (1 шт.)
2. Реагент 2. Розчинник, 14 мл (1 шт.)
3. Реагент 3. Позитивний контроль, який містить РФ більш 12 МОд/мл, 0.2 мл (1 шт.)
4. Реагент 4. Негативний контроль, який містить РФ менш 12 МОд/мл, 0.2 мл (1 шт.)
5. Палички для розмішування сироваток (100 шт.)
6. Тестовий слайд (1шт.)

Аналітичні характеристики

Чутливість тесту становить 12 МОд/мл (аглютинація на 2+). Стандартизація виконана по галузевому стандарту ДНВІ стандартизації та контролю медичних біологічних препаратів ім. Л.А.Тарасевича (Росія).

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 4-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається.

Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 10-100 мкл.

Підготовка реагентів

Всі реагенти готові до використання.

Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Якщо припустима концентрація речовини, що визначається перевищує норму, можлива відсутність аглютинації в цільній сироватці, рекомендуємо розвести сироватку в 2-4 рази.

Перед використанням перемішайте Р1 легким струшуванням флакону.

Проведення дослідження

1. Якісне визначення

1. Нанесіть на тестовий слайд послідовно по 10 мкл Р3, Р4, досліджуваного матеріалу.
2. Додайте по 10 мкл Р1 в кожную краплю Р3, Р4 та досліджуваного матеріалу.
3. Перемішуйте паличкою, яка надається до складу набору або скляною.
4. Похитуйте пластину протягом 3 хвилин.
5. Проведіть оцінку результатів дослідження.

2. Кількісне визначення

1. За допомогою Р2 приготуйте розведення досліджуваного матеріалу – 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 і т.д.

Приклад розведення

Номер проби	Досліджувана сир-ка	Р2	Наявність аглютинації	Титр	Вміст РФ, МОд/мл
1	Цільна сир-ка		відсутня		≤ 12
2	0.1 мл сир-ки	0.4 мл	присутня	5	≥60
3	0.1 мл проб №2	0.1 мл	присутня	10	≥120
4	0.1 мл проб №3	0.1 мл	присутня	20	≥240 і т.д.

2. Нанесіть на тестовий слайд послідовно по 10 мкл Р3, Р4, досліджуваного матеріалу.
3. Додайте по 10 мкл Р1 в кожную краплю Р3, Р4 та досліджуваного матеріалу.
4. Перемішуйте паличкою, яка надається до складу набору або скляною.
5. Похитуйте пластину протягом 3 хвилин.
6. Проведіть оцінку результатів дослідження.

Оцінка результатів дослідження

Аглютинацію, яка відбулась після 3 хвилин, розцінюють як неспецифічну.

Реакцію вважають позитивною, коли спостерігається аглютинація частин латексу. Величину реакції оцінюють в плюсах:

4 плюси – всі частини аглютиновані, розчин прозорий;

3 плюси – $\frac{3}{4}$ частин аглютиновані, розчин прозорий по краю;

2 плюси – ½ частин аглютиновані, розчин мутнуватий;

1 плюс – слабка аглютинація, розчин мутний.

При кількісному визначенні оцінку проводять згідно з останнім титром сироватки, який дав позитивний результат.

Для визначення кількості РФ в МОд/мл в пробі, необхідно найбільше розведення сироватки, що дало видиму аглютинацію, помножити на 12 МОд/мл. Наприклад, якщо аглютинація спостерігалася в титрі досліджуваної сироватки 1:20, то необхідно $20 \times 12 = 240$ МОд/мл.

Референтні величини

Нормальні показники до 12 МОд/мл.

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 4-10°C. Не допускається замороження!

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 1 рік з дня виготовлення набору.

СР	7042/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61050, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт
Діагностикум для виявлення ревматоїдного фактору
в сироватці крові людини
РФ - латекс-тест

IN VITRO

Серія **P209**

Дата виготовлення **01.11.2012**

Термін придатності **01.11.2013**

Зберігати при 4-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-001-2002	Результати контролю
Фізико-хімічні показники			
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	P1. Латексна суспензія	білого кольору	відповідає
1.2	P2. Розчинник	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.3	P3. Позитивний контроль	рідкий прозорий світло-жовтий розчин	відповідає
1.4	P4. Негативний контроль	рідкий прозорий світло-жовтий розчин	відповідає
2. pH реагентів			
2.1	P2	8.2 ± 0.2	відповідає
3. Показники правильності визначення			
3.1	P1. Чутливість не менш, МОд/мл	12	відповідає
3.2	P3. Концентрація РФ більш, МОд/мл	12	відповідає
3.3	P4. Концентрація РФ менш, МОд/мл	12	відповідає
4. Комплектація			
4.1	P1	1 фл. х 2 мл	відповідає
4.2	P2	1 фл. х 14 мл	відповідає
4.3	P3	1 фл. х 0.2 мл	відповідає
4.4	P4	1 фл. х 0.2 мл	відповідає
4.5	Палички для розмішування сироваток	100 шт.	відповідає
4.6	Тестовий слайд	1 шт.	відповідає

Термін зберігання – 1 рік з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-001-2002