

ÚČEL UŽITÍ

NADAL® RF Test je rychlotest sloužící pro imunochromatovou kvalitativní a semi-kvalitativní detekci revmatických faktorů v séru. Test je vyvinut výhradně pro profesionální užití.

SHRNUTÍ

Revmatické faktory (RF) jsou imunoglobuliny namířené proti Fc části imoglobulinu G (IgG). Kvantitativní analýza RF umožňuje rozlišit mezi revmatickou artritidou a jiným kloubovým onemocněním. Ve skutečnosti bývá RF nalezeno převážně u pacientů s revmatickou artritidou, u kterého se již dříve vyskytlo jiné kloubové onemocnění.

Dle kritérií ARA (Americká revmatologická asociace) je existence RF IgM typu v lidském séru jeden z nejdůležitějších serologických indikátorů pro prokázání revmatické artritidy. RF typu IgM obsahuje vlastnost tvořit s IgM imunokomplex, jehož molekuly recirkulačního systému se aktivují a způsobí jejich zánícení.

Vysoká míra RF IgM je všeobecně špatným znamením: nemoc postupuje rychleji, klouby a kosti budou napadeny a pravděpodobnost vytvoření uzlin je větší. Přesto ne vždy spolu přímo souvisí koncentrace RF a stádium nemoci: například přítomnost RF IgM může předběhnout vznik revmatické artritidy již o několik let.

Přestože přítomnost RF IgM není specifická pro revmatickou artritidu (vyskytují se i u bakteriálních infekcí, hyperglobulinémie nebo u starších lidí), je artritida u pacientů s vysokou sérologickou pozitivitou závažnější. U 70 až 80 % pacientů, kteří trpí artritidou se nacházejí také revmafaktory. Negativní výsledek testu nemusí nutně vylučovat neexistenci revmatické artritidy. Je třeba upozornit také na to, že u nejranějšího stádia onemocnění revmatoidní artritidou může být syntéza IgM dobu latence 4 týdny a více.

PRINCIP TESTU

NADAL® RF Test využívá imunochromatické metody k prokázání RF v lidském séru. Tato metoda se zakládá na kombinaci lidského a králičího imunoglobulinu, která je zachycena na membráně a je označena latexovými mikročásticemi.

První reakce mezi zředěným vzorkem séra a latexem označeným imunoglobulinem probíhá v kapalně fázi. Následně putuje vzniklý komplex membránou dále. Imobilizované imunoglobuliny zachytí ve výši zóny „T“ označený komplex, což vede k zobrazení modré (člověk) nebo červené (zvíře) „T“ linie, v závislosti na koncentraci RF ve vzorku. Kontrolní linie ve výši oblasti „C“ potvrzuje správné provedení testu.

REAGENCIE A DORUČOVANÉ MATERIÁLY

- 50 modrých testovacích proužků (s lidským imunoglobulinem)
- Lidský imunoglobulin konjugát
- 1 lahvička s 3 ml (modrá barva)
- 1 lahvička pufového roztoku
- 1 návod k použití

POTŘEBNÉ, ALE NEDORUČOVANÉ MATERIÁLY

- Trubička pro odběr krve
- Plastická trubička
- Centrifuga
- Stopky
- Precizní pipety

SKLADOVÁNÍ A TRVANLIVOST

- Celý testovací kit musí být skladován schlazený při teplotách 2°- 8° C.
- Lahvičky konjugátu a pufového roztoku musí být skladovány při teplotě 2°- 8° C.
- Hliníkové sáčky s testovacími proužky mohou být skladovány zvlášť buď při pokojové teplotě, nebo schlazené při teplotě 2-30° C.
- Testovací proužky jsou trvanlivé až do data spotřeby, které je uvedeno na hliníkovém sáčku.
- Nezmrazovat.
- Testovací proužky musí být až do použití skladovány v originálních sáčkích.
- Po uplynutí data spotřeby nepoužívejte.

UPOZORNĚNÍ

- Testy slouží pouze k invitro užití. Nepoužívat po uplynutí doby spotřeby.
- Nejezte, nepijte a nekuřte při provádění testu.
- Lahvičky konjugátu a ředícího pufru obsahují azid sodný jako konzervační prostředek. Ten může reagovat s mědí a olovem (ve vodovodním potrubí) a přitom tvořit výbušné částice. Vypláchněte vodní potrubí vodou tak pečlivě, aby se zamezilo tvorbě azidu v potrubí. Azid sodný je jedovatý, a proto by se s ním mělo zacházet s opatrností, tak aby se předešlo kontaktu s pokožkou a požití.
- Vzorek séra je považován za potenciálně infekční materiál, a proto s ním musí být zacházeno dle platných směrnic.

- Nepoužívejte žádné reagenty z testovacího kitu s odlišnými číslem šarže.
- Během provádění testu používejte ochranný oděv, např. laboratorní plášť, jednorázové rukavice, ochranné brýle.
- Vlhkost a vysoké teploty mohou ovlivnit výsledek testu.

ODBĚR VZORKU A PŘÍPRAVA

- Nepoužívejte žádné hemolytické nebo kontaminované vzorky séra. Kalné vzorky musí být před provedením testu centrifugovány.
- Test musí být proveden ihned po odběru a centrifugaci vzorku; pokud tak nelze, je možné uložit vzorek na 24 hodin při teplotě 2°- 8° C. Pro delší skladování musí být vzorek zmrazen na teplotu -20° C.
- Zmrazené vzorky musí být před provedením testu přivedeny na pokojovou teplotu a důkladně promíchány. Vzorky by po rozmrazení neměly být opět zmrazovány.
- Pokud je vzorek zaslán, musí být zabalen dle státem předepsaných norem.
- U zmražených vzorků je doporučeno, aby se počkalo na odpovídající metodu přeměny, dokud nebude mít sérum před provedením testu opět pokojovou teplotu.

PROVEDENÍ TESTU

Před provedením testu přiveďte všechny části testovacího kitu na pokojovou teplotu 15°- 30° C.

Kvalitativní provedení testu

1. Vyjměte proužky z hliníkového obalu a test proveďte co nejdříve.
2. Rozpusťte sérum 1/20 v ředícím pufru (25μl Séra v 475μl ředícím pufru).
3. Protřeptejte opatrně lahvičky s konjugátem a míchejte v čisté a suché trubičce v kapce konjugátu s 30μl rozpuštěným séra (1/20).
4. Míchejte roztok opatrně a nechejte odstát sloučeninu asi 5 minut při pokojové teplotě.
5. Namočte proužky s jehli až k ukázané ve směsi.
6. Po 5 min. vyčtěte výsledek

Qualitative Testdurchführung

1. Vyjměte proužek z aluminiového sáčku a test co nejdříve proveďte.
2. Rozřeďte sérum 1/20 v ředícím pufru (25μl séra v 475μl pufového roztoku).



3. Schütteln Sie vorsichtig das Fläschchen mit dem Konjugat und mischen Sie in einem sauberen und trockenen Röhrchen einen Tropfen des Konjugats mit 30μl des gelösten Serums (1/20).

4. Mischen Sie die Flüssigkeiten vorsichtig und lassen Sie die Mischung 5 Minuten bei Raumtemperatur stehen.
5. Tauchen Sie den Streifen mit den Pfeilen nach unten zeigend in die Mischung.



6. Lesen Sie das Ergebnis nach 5 Minuten ab.



Semikvantitativní provedení testu

V případě pozitivního výsledku s rozmíchaným sérem v poměru 1/20, semikvantitativní test může být proveden v roztoku bohatém s pufovou směsí.

Připravte si následující roztok:

D1= 25μl čírého séra + 475 μl pufového roztoku = roztok D1, použit v kvalitativním provedení testu.

D2= 50μl pufového roztoku + 50μl D1 = roztok 1/2

D4= 50μl pufového roztoku + 50μl D2 = roztok 1/4

D8= 50μl pufového roztoku + 50μl D4 = roztok 1/8

Proveďte následně jako v bodě 2 až 6 kvalitativní test.

Semi-quantitative Testdurchführung

Im Falle eines positiven Ergebnisses mit gelösten Serum im Verhältnis 1/20, kann ein semi-quantitativer Test in einer Lösungsreihe mit Pufferlösung durchgeführt werden.

Bereiten Sie die Lösungen wie folgt vor:

D1= 25µl pures Serum + 475 µl Pufferlösung = Lösung D1, verwendet in qualitativer Testdurchführung

D2 = 50µl Pufferlösung + 50µl D1 = Lösung 1/2

D4 = 50µl Pufferlösung + 50µl D2 = Lösung 1/4

D8 = 50µl Pufferlösung + 50µl D4 = Lösung 1/8

Fahren Sie anschließend wie in Punkt 3 bis 6 der qualitativen Testdurchführung fort.

Výsledky testu – upozornění:

- Testovací linie může být pozitivní připravena před 15 minuty u silnější koncentraci RF v vzorku.
- Slabé a nedůležitého titru od RF může provádět přibližně 5% případů k výstupu slabé testovací linie po 5 minutě hranici.

Testergebnisse- Hinweis:

- Die Testlinie kann bereits vor der fünften Minute bei einer starken Konzentration an RF in der Probe positiv sein.
- Ein schwacher und unbedeutender Titer von RF kann in ungefähr 5% der Fälle zum Auftreten einer schwachen Testlinie nach der 5 Minuten-Grenze führen. Es ist jedoch entscheidend das Ergebnis in der fünften Minute abzulesen.

KVALITATIVNÍ KONTROLA

Integrovaný kontrolní proces (kontrolní linie C) umožňuje správné provedení testu a důkaz o postačujícím množství vzorku.

QUALITÄTSKONTROLLE

Ein integrierter Kontrollprozess (Kontrolllinie C) ermöglicht den Nachweis einer ausreichenden Probemenge und der korrekten Testdurchführung.

VYHODNOCOVÁNÍ VÝSLEDKU

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Positivní

Výstup testovací linie: RF jsou obsaženy v klinickém rozhodovacím titru ve vzorku

Auftreten der Testlinie: RF sind in einem klinisch entscheidendem Titer in Probe enthalten

Semi-qualitativní provedení testu:

Titr leží mezi převrácení poslední pozitivní ztenčovacím stupněm a prvním negativním ztenčovacím stupněm, násobené s prokázanou hranicí testu.

Příklad: pokud je serum roztoku ¼ pozitivní, potom je titer mezi 4 krát 12 IU/ml (d.h. 48 IU/ml) a 8 krát 12 IU/ml (d.h. 96 IU/ml).

Upozornění: Jedná se zde o jen semikvantitativní metodu, která kvantitativní způsob nemůže nahradit (ELISA, Kaliní analýza, nefelometrie).

Semi-quantitative Testdurchführung:

Der Titer liegt zwischen der Umkehrung der letzten positiven Verdünnungsstufe und der ersten negativen Verdünnungsstufe, multipliziert mit der Nachweisgrenze des Tests.

Beispiel: wenn ein Serum positiv bei der Lösung 1/4 ist, ist der Titer zwischen 4 mal 12 IU/ml (d.h. 48 IU/ml) und 8 mal 12 IU/ml (d.h. 96 IU/ml).

Hinweis: Es handelt sich hierbei lediglich um eine semi-quantitative Methode, die ein quantitatives Verfahren nicht ersetzen kann (ELISA, Trübungsanalyse, Nephelometrie).

Negativní

Testovací linie se

Die Testlinie erscheint weder bei dem Streifen mit menschlichen noch mit tierischen Immunglobulinen: RF sind nicht auf einem klinisch-entscheidenden Level in der Probe vorhanden.

Neplatný

Neobjeví se žádná kontrolní linie (C). Nejčastějším důvodem je nedostatečné množství vzorku nebo špatné provedení testu. Test musí být opakován s použitím nového testovacího proužku.

Es erscheint keine Kontrolllinie (C). Die häufigste Erklärung ist eine zu geringe Probenmenge oder eine falsche Testdurchführung. Der Test muss mit einem neuen Streifen wiederholt werden.

HRANICE TESTU

1. NADAL® RF Testslouží k prokázání revmatoidních faktorů v séru. Test slouží pouze pro in vitro použití.

2. NADAL® RF Test
3. Výsledky, které s testu
4. Tak jako u všech in vitro testů musí být výsledek testu vyhodnocen lékařem, s důrazem na všechny ostatní dostupné biologické a klinické informace.

GRENZEN DES TESTS

1. Der NADAL® RF Test dient zum Nachweis von Rheumafaktoren im Serum. Der Test ist nur für den in-vitro-Gebrauch bestimmt. Die Mengenbestimmung der RF sowie die Nachverfolgung der Kinetik ist mit dem NADAL RF nicht durchführbar. Jedes positives Ergebnis muss mit Hilfe eine quantitativen Methode bestätigt werden (ELISA, Trübungsanalyse, Nephelometrie).
2. Der NADAL® RF Test zeigt lediglich auf, ob RF im Serum vorhanden sind oder nicht, und sollte daher nicht alleine für die Diagnostik rheumatoider Arthritis genutzt werden.
3. Ergebnisse, die mit Teststreifen mit menschlichen oder tierischen Immunglobulinen erlangt wurden, sind nicht zu 100% identisch. Diskrepante Ergebnisse können aufgrund unterschiedlicher Reaktivität entstehen. Das Vorhandensein von Anti-Hase-IgM im Serum des Patienten kann demnach in 2% der Fälle zu einem falschen positiven Anti-Tier-Ig Ergebnis führen.
4. Wie bei allen in-vitro-Test muss das Ergebnis vom Mediziner ausgewertet werden, basierend auf allen anderen verfügbaren biologischen und klinischen Informationen.

K VYHODNOCUJÍCÍM HODNOTÁM

Prokázání RF může být interpretováno pouze ve spojení s klinickými symptomy. Prevalence RF je: 70-80% pacientů trpících artritidou, 75 - 95% pacientů se Sjögrenovým syndromem, a 20-40% pacientů trpících lupusem. Latexový aglutinaci test (lidské Ig) je doporučovanější než Waaler Rose Test (zvířecí). Ohodnocení 60% případů artritidy je pozitivně testováno Waaler Rose Testem, naopak Latexový test 80% pozitivně testuje.

ZU ERWARTENDE WERTE

Der Nachweis von RF kann nur im Zusammenhang mit klinischen Symptomen interpretiert werden. Die Prävalenz der RF ist: 70-80% der - Patienten, 75-95% der Patienten mit dem Sjögren-Syndrom, und 20-40% der Lupus-Patienten.

Der Latex-Agglutinationstest (menschliche Ig) ist empfindlicher als der Waaler Rose Test (tierische Ig). Geschätzte 60% der Fälle von Arthritis werden beim Waaler-Rose-Test positiv getestet, wohingegen der Latex-Test 80% der Fälle positiv testet. Die „menschlichen“ Teststreifen können also ein positives Ergebnis liefern, während die „tierischen“ Streifen negativ sind. Der umgekehrte Fall ist sehr selten. Bei Blutspendern zeigten 2% der Fälle Anti-Hase-IgM Antikörper, welche mit der Waaler-Rose-Methode zu einem falschen positiven Ergebnis führten. Einzelergebnis mit „tierischen“ Streifen sollten daher auf der Grundlage von klinischen Symptomen und den Ergebnissen mit einem „menschlichen“ Streifen interpretiert werden.

5% der 16- bis 43-Jährigen haben ein RF-Level über 8 IU/ml. Bei älteren Patienten oder Patienten mit einer Mononukleose-, Hepatitis- oder Syphiliserkrankung können positive Ergebnisse entstehen.

LEISTUNGSMERKMALE

Sensitivita – specifita

Interní studie provedla srovnávání 152 vzorků s kvantitativní imunoenzymatickou metodou. Positivní hranice imunienzymatické metody na 12 IU/ml stanovila.

Sensitivita-Spezifita

Eine interne Studie wurde an 152 Proben im Vergleich mit einer quantitativen immunoenzymatischen Methode durchgeführt. Die Positivgrenze der immunoenzymatischen Methode wurde auf 12 IU/ml festgelegt.

		ELISA	
		Positivní	Negativní
NADAL® RF	Positivní	40	4
	Negativní	0	108

Sensitivita 100% - Specifita 96%

Výsledková hranice

Studie, která měla k dispozici

Nachweisgrenze

Eine Studie, durchgeführt an einer Lösungs-Serie von WHO Standard und von NIBSC zur Verfügung gestellt (Ref. 64/ 002), ermöglichte die Nachweisgrenze des NADAL® RF auf **12 IU/ml** festzulegen.

Intra a inter skupinový reprodukční práce

NADAL® EBV M byla vyhodnocena ve 3 oborové byhotovení ve dvou rozdílných skupinách s negativním, slabě pozitivním a vysoce pozitivním sérem. Výsledky v následující tabulce ukazují, že možnost Interní a Intra skupin k reprodukci leží 100%.

Intra- und Inter-Gruppen Reproduzierbarkeit

NADAL® EBV M wurde in dreifacher Ausfertigung in zwei unterschiedlichen Gruppen mit negativen, niedrig positiven und hoch positiven Seren ausgewertet. Die Ergebnisse, in folgender Tabelle zu sehen, zeigen, dass die Fähigkeit der Inter- und Intra-Gruppen sich zu reproduzieren, bei 100% liegt.

	NADAL® RF	ELISA
Počet testovaných vzorků	148	148
Počet pozitivních výsledků	40	36
Počet negativních výsledků	108	112

LITERATURA

- Harris, EA. Rheumatoid arthritis: Pathophysiology and Implications for Therapy, New England Newspaper off Medicine, 322:1277 - 1289 (1990).
- Linker, JB III, and Williams, RC, Jr. Tests for Detection off Rheumatoid Factors, Manual off Clinical Immunology Laboratory, 3rd edition, Rose, NR, Friedman, H, and Fahey, JL, eds., ASM, Washington, cd., pp. 759-761 (1986).
- Jackson, G. Immunodeficiencies and Autoimmune Disorders, In: Clinical Medicine Laboratory, Tilton, R, et al., eds., Mosby Year Book, Inc., St Louis, MO, CH. 36, pp. 485-504 (1992).
- Richardson, C, Emery, P. Laboratory Markers off Disease Activity, Newspaper off Rheumatology, 23 (suppl. 44): pp. 23-30 (1996).
- Sager, D, Wernick, RM, and Davey, MP. Assays for Rheumatoid Factor: In Review off Their Utility and Limitations in Clinical Practice, Medicine Laboratory, 23 (1): 15-18 (1992).
- Carson, DA. Rheumatoid Factor, In: Textbook off Rheumatology, Kelley, WN, Harris, ED, and Sledge, RS, eds., Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 664-679 (1985).
- Truesdsson, L and Sturfelt G. False positive Waaler-Rose test due to anti-rabbit IgM antibodies in IgA deficiency. Clin. Exp. Rheumatol. 1983 Oct-Dec ; 1(4) : 307-10

SYMBOLY

IVD	Jen pro in vitro diagnostiku		Jen k jednorázovému použití
Cont.	Obsah		Datum spotřeby
LOT	Číslo šarže		Teplota skladování