

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

29 грудня 2012 р.

І.Б. Демченко

Код за НК 024:2023 – **55111**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

20 грудня 2012 р.

І.П. Семенів

ТУ У 24.4-24607793-023:2008

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ РЕВМАТОЇДНОГО ФАКТОРУ(РФ) В СИРОВАТЦІ КРОВІ (РФ -ТУРБІЛАТЕКС)

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення концентрації **ревматоїдного фактору (РФ)** в сироватці крові людини турбідиметричним методом в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований (з урахуванням калібрувальних проб) на відповідну кількість визначень концентрації **РФ** (Див. **Примітку 2**).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>ЛА033.06</u>	20	10	5	<u>ЛА033.10</u>	50	25	12
<u>ЛА033.11</u>	100	50	25				

Діапазон визначаємих концентрацій - від **6 МОд/мл до 160 МОд/мл**.

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 6 %.

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності/хв – не більше **4 МОд/мл** (650 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Увага! Заморожувати неприпустимо!

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Ревматоїдні фактори (РФ) – це специфічні імуноглобуліни людини класів М, G, A, що направлені проти Fc фрагменту імуноглобуліну людини.

Випробування засновано на виявленні у сироватці крові людини **РФ**, який взаємодіє з гама-глобуліном, зв'язаним з частинками латексу, з помутнінням (преципітацією комплексу „антиген - антитіло”), яке визначається фотометрично на довжині хвилі **650 нм**.

СКЛАД НАБОРУ

1. Латексна суспензія (з нанесеним гама-глобуліном)	<u>ЛА033.06</u> - 1 флакон з (4,0 ± 0,2) мл; <u>ЛА033.10</u> - 1 флакон з (10,0 ± 0,5) мл; <u>ЛА033.11</u> - 2 флакони по (10,0 ± 0,5) мл;
2. Ділюент	<u>ЛА033.06</u> - 1 флакон з (16 ± 1) мл; <u>ЛА033.10</u> - 1 флакон з (40 ± 2) мл; <u>ЛА033.11</u> - 2 флакони по (40 ± 2) мл;
3. Додатковий реагент	Калібратор РФ - ТурбіЛатекс - до складу наборів не входить
4. Додатковий реагент	Контрольні розчини АСЛ-О, РФ, СРБ - ТурбіЛатекс Низький рівень - до складу наборів не входить
5. Додатковий реагент	Контрольні розчини АСЛ-О, РФ, СРБ – ТурбіЛатекс Високий рівень - до складу наборів не входить

АНАЛІЗУЄМИЙ МАТЕРІАЛ

Сироватка. Свіжа сироватка. Матеріал стабільний протягом тижня при температурі від плюс 2°С до плюс 8°С або 3 місяці при температурі мінус 20°С.

Не використовувати високоліпімічні та високогемолізовані сироватки (Див. **Інтерференція**).

Перед випробуванням зразки з присутністю фібрину мають бути центрифуговані.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **650 (600-650) нм** в діапазоні (0-1) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм та що підтримує температуру плюс (37 ± 1) °С в оптичній комірці.

- Піпетки місткістю 5; 1; 0,1 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).
- Водяний термостат або автоматична водяна баня, які здатні підтримувати температуру (плюс 37 ± 1) °C.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

За **30-40 хв** до проведення випробувань компоненти набору і зразки повинні бути перенесені з холодильника в приміщення з температурою від плюс 18 °C до плюс 25 °C.

Розчини 1-2. Придатні до використання. Флакон з **Латексною суспензією** перемішують легким струшуванням перед використанням. Розчини стабільні до закінчення гарантійного терміну придатності (при дотриманні умов зберігання, зазначених на упаковці).

ПРИГОТУВАННЯ КАЛІБРУВАЛЬНИХ РОЗЧИНІВ ДЛЯ ПОБУДУВАННЯ КАЛІБРУВАЛЬНОГО ГРАФІКУ

1. Розчин калібратору РФ. Флакон з ліофілізатом обережно відкривають, не допускаючи втрат сухої речовини, і до флакону піпеткою відміряють **(2,00±0,01) мл** бідистильованої води (концентрація і адекватність подальшого результату контролю залежать від точності виконання цього етапу приготування).

Флакон знову закривають пробкою і його вміст періодично перемішують круговим обертанням, не струшуючи і не допускаючи утворення піни, витримують при кімнатній температурі на протязі 10 хвилин, до повного розчинення ліофілізату. Перед відбиранням проби на аналіз необхідно ретельно перемішати вміст флакону.

Розчин калібратору РФ стійкий не менше 30 діб при температурі зберігання від плюс 2 °C до плюс 8 °C.

2. Калібрувальні розчини готують відповідно таблиці 1.

Таблиця 1

Розчин №	Розчин калібратору РФ (а МОд/мл), мкл	Фізіологічний розчин (NaCl 9 г/л), мкл	Кінцева концентрація РФ, МОд/мл
1	--	100	$0,000 \times a$
2	10	90	$0,100 \times a$
3	25	75	$0,250 \times a$
4	50	50	$0,500 \times a$
5	75	25	$0,750 \times a$
6	100	--	$1,000 \times a$

a – концентрація РФ (МОд/мл), приведена на етикетці флакона з калібратором РФ.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 2.

Таблиця 2

Відміряємий розчин, мл	Дослідна або калібрувальна проба			Холоста проба		
	Макро	Напівмікро	Мікро	Макро	Напівмікро	Мікро
Ділюент	3,200	1,600	0,800	3,200	1,600	0,800
Латексна суспензія	0,800	0,400	0,200	0,800	0,400	0,200
Перемішують і витримують до температури плюс (37 ± 1) °C 3 хв в кюветі. Вводять						
Сироватка або Калібрувальні розчини	0,021	0,014	0,007	--	--	--
Фізіологічний розчин (NaCl 9 г/л)	--	--	--	0,021	0,014	0,007
Перемішують і вимірюють оптичну щільність дослідної проби (E_1), калібрувальної проби ($E_{\text{кал}}$) або холостої проби ($E_{\text{хол}}$) (після 120 с) проти дистильованої води . Фотометрування (див. розділ «Обладнання»).						

ПОБУДУВАННЯ КАЛІБРУВАЛЬНОГО ГРАФІКУ

Знаходять різницю $\Delta E_{\text{кал}} = (E_{\text{кал}} - E_{\text{хол}})$ для кожного Калібрувального розчину з таблиці 1.

При побудові калібрувального графіка на осі абсцис відкладають величини концентрації РФ, на осі ординат – розраховані величини оптичної щільності відповідної калібрувальної проби ($\Delta E_{\text{кал}}$).

РОЗРАХУНОК ПО КАЛІБРУВАЛЬНОМУ ГРАФІКУ

Знаходять різницю $\Delta E = (E_1 - E_{\text{хол}})$ для Дослідної проби. Інтерполяцією цієї величини ΔE на калібрувальному графіку знаходять відповідну величину концентрації РФ.

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ⁶

Норма: у сироватці до **20 МОд/мл**.

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні розчини із значеннями концентрації, визначеними даним методом. Наприклад: **”Контрольні розчини АСЛ-О, РФ, СРБ - ТурбіЛатекс” Низький та Високий рівень** (Україна).

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Ревматоїдні фактори (РФ) – це група антитіл, спрямованих на детермінанти в Fc-частині молекули імуноглобуліну G (**IgG**). Вони утворюються 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.

Хоча ревматоїдні фактори не специфічні і в більш низьких титрах виявляються при ряді захворювань, таких як системний червоний вовчак (СЧВ) та синдром Шегрена, при інфекційному мононуклеозі, гострих запальних процесах (бактеріальний ендокардит, сифіліс, туберкульоз, кір, краснуха, грип та ін.), саркоїдозі, гепатиті, системній склеродермії, поліміозиті, їх центральна роль у клініці полягає в їх корисності як допоміжного засобу в діагностиці ревматоїдного артрити (РА).

Визначення використовується в діагностиці, моніторингу течії та контролю ефективності лікування РА.

Підвищення рівню РФ в сироватці крові з'являється через 6-8 тижнів від початку захворювання.

Дослідження «Американського коледжу ревматології» показує, що 80,4% пацієнтів з РА були РФ-позитивними але можливі серонегативні форми РА.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Гемоглобін (10 г/л), білірубін (200 мг/л), ліпіди (10 г/л) не впливають на результат. Інші субстанції можуть інтерферувати⁷.

ПРИМІТКИ

1. **Якщо припустима концентрація визначаємого аналіту перевищує 160 МОд/мл**, необхідно розвести сироватку **1 : 5** фізіологічним розчином (NaCl 9 г/л) та повторити дослідження. Отриманий результат множать на 6.
2. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 1,0 мл (мікро-), 2,0 мл (напівмікро-), 4,0 мл (макро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

Ділюент : Латексна суспензія : Дослідний зразок = 800 : 200 : 7

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Реагенти включають азид натрію (отруйна речовина).

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ЛІТЕРАТУРА

1. Frederick Wolfe et al. Arthritis and Rheumatism 1991; 34: 951-960.
2. Robert W Dorner et al. Clinica Chimica Acta 1987; 167: 1-21.
3. Robert H Shmerling et al. The American Journal of Medicine, 1991; 91: 528-534.
4. Vladimir Mulè et al. Scand J Rheumatology 1972; 1: 181-187.
5. Paul R et al. Clin Chem 1979; 25/11: 1909-1904.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory test, 3th ed. AACC Press, 1997.

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **11.06.2025**

7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

8. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,

Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32

Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34

Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54

E-mail: filicit@ukr.net

<http://www.felicit.com.ua>