

88-0923-1

Revised: August 1999

RFSCAN™

English: pages 1 – 4
Français : pages 4 – 7
Deutsch: Seiten 7 – 10

Italiano: pagine 10 – 13
Español: páginas 13 – 16

NEW!
Titerable Positive Control Included

INTENDED USE

The **RFscan™** Latex Test is intended for the qualitative or quantitative determination of circulating rheumatoid factors.

SUMMARY AND EXPLANATION

Rheumatoid factors are antibodies of various immunoglobulin classes which are directed against specificities in the Fc portion of IgG molecules. Serum rheumatoid factor (RF) appears most commonly, and in the highest titer, in patients with the chronic systemic disease rheumatoid arthritis.¹ These autoantibodies are detected in approximately 70% of adult rheumatoid arthritis patients.² Therapeutic measures can suppress the inflammatory manifestations of the disorder and aid in minimizing musculoskeletal dysfunction. Hence, serological tests for the early detection of RF have significant clinical applications.

Many disease states other than rheumatoid arthritis have been shown on occasions to give seropositive RF results. Some RF assays have returned positive results in patients with disseminated sarcoidosis, syphilis, essential hypertension and hepatitis.^{1,3} Furthermore, a small number of healthy people, especially the elderly, may also have RF.⁴ As a rule these individuals display very low titers of RF and can usually be distinguished from rheumatoid arthritis patients by this means.

Using sheep erythrocytes sensitized with rabbit gamma-globulin, Waaler in 1940⁵ and Rose et al. in 1948⁶ related hemagglutination by human serum to the disease rheumatoid arthritis. In 1956, Singer and Plotz⁷ eliminated many of the variables associated with sheep erythrocytes by replacing the erythrocytes with biologically inert latex particles coated with gamma-globulin. This method serves as the basis for the **RFscan** Latex Test. Refinements in the preparation and stabilization of sensitized particles have led to an improved sensitivity and specificity of the test.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **RFscan** Latex assay is based on the agglutination of IgG-coated uniform latex particles by patient serum containing rheumatoid factor. In the presence of agglutinating antibody (RF), the particles aggregate and form macroscopic clumps on the surface of the test card. In the absence of RF, no agglutination occurs, and the latex suspension remains homogeneous.

REAGENTS

Reagent A, RFscan Latex Antigen, vinyltoluene t-butylstyrene copolymer particles coated with heat-aggregated, purified human IgG; in glycine-buffered saline, with 0.01% thimerosal (preservative).

Reagent B, RFscan Sample Diluent, glycine-buffered saline, with 0.01% thimerosal (preservative).

Control +, RFscan Positive Control (Titerable), human serum containing rheumatoid factor in phosphate-buffered saline, with 0.01% thimerosal (preservative). See Assay Value Card for titer and International Unit (IU/mL) information.

Control -, RFscan Negative Control, diluted human serum in phosphate-buffered saline, with 0.01% thimerosal (preservative).

Precautions: *in vitro* Diagnostic

Reagents: Do not use beyond the expiration date. Upon removal from refrigeration, allow reagents to warm to room temperature (15 to 30°C) before use. Do NOT mix reagents from different kit lot numbers.

The **RFscan** Latex Antigen may require vigorous shaking to thoroughly resuspend. Keep the vial tightly closed when not in use to prevent evaporation of the suspension medium. The suspension should be milky and homogeneous. Do not use the reagent if it shows signs of flocculation.

To assure proper drop delivery hold dispensing bottles vertically, dispensing one free-falling drop at a time.

Controls: Do not use the kit if positive and negative controls do not yield appropriate results.

The serum controls are derived from human blood tested by an FDA (U.S. Food and Drug Administration)-approved method for the presence of the antibody to HIV (human immunodeficiency virus) and HBsAg (hepatitis B surface antigen) and found to be nonreactive.

**BECTON
 DICKINSON**

TRIM SIZE: 5 1/2" x 8 1/2"
 COLOR: Blue, PMS #3135
 DRAFT 3: 6/15/95

WARNING: Because no test method can offer complete assurance that HIV, hepatitis B virus, or other infectious agents are absent, SPECIMENS AND THESE REAGENTS SHOULD BE HANDLED AS THOUGH CAPABLE OF TRANSMITTING AN INFECTIOUS DISEASE. The Food and Drug Administration recommends such material be handled at a Biosafety Level 2. BSL2 is referenced in the Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH) manual, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*.

Test Cards: Cards must be flat for proper reactions. If necessary, flatten cards by bowing back in a direction opposite to that of the curl. Care should be taken not to finger-mark the test areas, since this may result in an oily deposit and improper test results. Use each card once and discard. Store cards in the original package in a dry area at room temperature.

Reading of Test Results: Results should be read promptly under a high intensity incandescent lamp. Fluorescent lighting is generally insufficient to distinguish minimally reactive results. The use of magnification in reading test results is not recommended.

Storage of Reagents: Refrigerate at 2 to 8°C. DO NOT FREEZE. Reagents should be recapped and returned to refrigerator when not in use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serological specimens should be collected under aseptic conditions. Allow whole blood to clot; then centrifuge to remove particulate matter from the serum. Decant promptly. Samples may be stored refrigerated for several days or frozen at -20°C for extended storage. Repeated freezing and thawing of serum is not recommended. The use of hemolyzed, markedly lipemic, or contaminated samples may cause difficulty in the interpretation of test results.

No special preparation of the patient is required prior to specimen collection.

PROCEDURES

Review "Precautions" and "Specimen Collection and Preparation" prior to performing procedures. The testing area, reagents, test specimens and test components should be at room temperature (20 – 25°C) when used.

Materials Provided:

	No. 265000 (40 Tests)	No. 265001 (100 Tests)
Reagent A, RFscan Latex Antigen,	2.0 mL	5.5 mL
Reagent B, RFscan Sample Diluent,	14.0 mL	2 x 60.0 mL
Control +, RFscan Positive Control (human serum),	1.0 mL	1.5 mL
Control -, RFscan Negative Control (human serum),	1.0 mL	1.5 mL
Test Cards,	8	8
Assay Value Information,	1	1
Dispenstirs™, Dropper/Spreader	50	100

Materials Not Provided: Micropipettor with disposable tips, 50 and 100 µL delivery (see "Availability"), serological pipets (1 or 2 mL) or variable micropipet (1,000 µL), 12 x 75 mm test tubes and rack.

Also required are the necessary equipment and labware used for preparation, storage and handling of serologic specimens.

Procedural Overview:

The **RFscan** Latex Test may be used for either a qualitative or quantitative estimation of rheumatoid factor in patient sera. The screening test uses undiluted patient serum. If agglutination is evident, dilute the sample 1:20 with the **RFscan** Sample Diluent provided with the kit, and repeat the test. **Only those patient samples which remain positive at 1:20 are considered positive for rheumatoid factor.** These sera may be further analyzed by the card titration method described in "Quantitation (card titration method)."

PERFORMANCE OF TESTS

Screening (Qualitative):

1. Mark the card to identify the controls and all samples being tested.
2. Place one drop each of the **Control +** and **Control -** onto the appropriate test circle.
3. Deliver one drop of serum onto a vacant circle on the test card, using a separate **Dispenstirs™** device for each patient serum.
4. Resuspend **Reagent A** by shaking vigorously. Deliver one drop **Reagent A** to each serum (patients and controls) on the card. Mix each serum circle with the flat end of the *corresponding* **Dispenstirs™** device; spread the contents within the entire test circle area. Avoid cross contamination of test areas in adjacent circles.
5. Rock the card with a gentle rotary motion for 60 sec, while observing each test area for agglutination by tilting the test card so that the flow of latex across each test area can easily be seen.

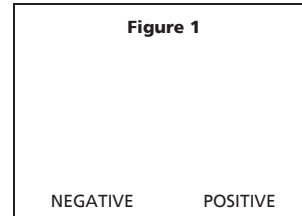
INTERPRETATION OF TEST RESULTS

Qualitative Test: The positive control should show agglutination, while the negative control should show no agglutination (Figure 1).

NOTE: UNDILUTED SAMPLES EXHIBITING AGGLUTINATION MUST BE DILUTED 1:20 AND REASSAYED. ONLY THOSE PATIENT SAMPLES THAT REMAIN POSITIVE AT 1:20 ARE CONSIDERED POSITIVE FOR RHEUMATOID FACTOR.

Quantitation (Card Titration Method): Follow Steps 1 through 11 for each serum (or control) to be tested. Use a different pipet or pipet tip for each patient. The large test card is recommended for use with the card titration method.

1. Label a test tube for each patient (or control) to be tested.
2. Deliver 1.9 mL of **Reagent B** into each tube.
3. Deliver 100 μ L of patient serum (or control) into the corresponding tube. Mix the contents well. Each tube now contains a 1:20 dilution of the patient serum (or control).
4. Pipet 50 μ L of **Reagent B** in test circles 2 through 6.
5. Pipet 50 μ L of the 1:20 patient serum (or control) dilution into test circle 1.
6. Pipet 50 μ L of the 1:20 patient serum (or control) dilution into test circle 2. Mix the contents of the test circle by several aspiration/delivery cycles from the pipet.
7. Using the same pipet tip, aspirate 50 μ L of the mixture from test circle 2 and deliver it into test circle 3. Mix as before and transfer 50 μ L of the mixture into test circle 4.
8. Continue the mix and transfer procedure through test circle 6.
9. Discard 50 μ L from test circle 6.
10. Resuspend the **Reagent A** by shaking vigorously. Deliver one drop of **Reagent A** to each circle. Mix and distribute the contents evenly within the entire circle using the flat end of a clean **Dispensirs™** device.
11. Rock the card with a gentle rotary motion for 60 sec while observing for agglutination by tilting the test card so that the flow of latex across each circle can easily be seen. The titer is determined by the last circle exhibiting agglutination.



Circle No.	Dilution	Circle No.	Dilution
1	1:20	4	1:160
2	1:40	5	1:320
3	1:80	6	1:640

Procedural Notes: Extended incubation of more than 1 min may produce false positive results due to evaporation of the test mixture on the card.

DETERMINATION OF RESULTS

Results are obtained by establishing whether agglutination has occurred in the test circles. Observation of clearly visible macroscopic clumping of latex particles as the test card is tilted back and forth constitutes a positive result. ONLY THOSE PATIENT SAMPLES WHICH REMAIN POSITIVE AT 1:20 ARE CONSIDERED POSITIVE FOR RHEUMATOID FACTOR. A milky homogeneous mixture with no visible agglutination constitutes a negative result. Agglutination noted on undiluted serum but not observed on a 1:20 dilution also constitutes a negative result. With the card titration method, the titer is determined to be the greatest dilution giving a positive reading.

The **RFscan** Positive Control is traceable to the WHO International Reference Preparation. Using the **RFscan** Positive Control as a secondary standard, results may be expressed in IU/mL following the formula:

$$\text{Sample IU/mL} = \frac{\text{IU/mL Positive Control} \times \text{titer of sample}}{\text{titer of control}}$$

For positive control IU/mL information, refer to enclosed Assay Value Card.

Quality Control: A positive and negative control are provided in each **RFscan** kit. The positive control should show agglutination, while the negative control should show no agglutination. If the Card Titration Method is used, the positive control should exhibit agglutination through the titer given in the Assay Value Information.

LIMITATIONS OF PROCEDURES

The clinical significance of any test result depends upon its relationship to other medical data. Disease diagnosis and management should be based on an evaluation of all relevant patient information.

EXPECTED VALUES

Rheumatoid factor is present in the sera of most patients with classic rheumatoid arthritis. Although a positive RF test result is highly suggestive of rheumatoid arthritis, it is not diagnostic for this condition since RF also appears in a small percentage of healthy individuals and in some patients with other disorders.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Comparison of **RFscan** Latex Test versus a commercially available sheep RBC agglutination procedure and another commercially available latex determination was performed on patients with clinically diagnosed rheumatoid arthritis, and on patients with autoimmune or connective tissue diseases including systemic lupus erythematosus, osteoarthritis, systemic sclerosis, fibromyositis, vasculitis and polymyalgia. Of 121 negative results by the **RFscan** latex agglutination assay, all were negative by a leading commercial latex agglutination assay; one sample was borderline positive (i.e., lowest possible titer) by hemagglutination. Likewise, of 25 positive results by the **RFscan** assay, all were positive by both hemagglutination and another latex agglutination procedure.

AVAILABILITY**REFERENCES**

1. Howell, D.S., J.M. Malcolm, R. Pike, and B. Broome. 1960. The F II agglutinating factors in serums of patients with non-rheumatic diseases. *Am. J. Med.* 29:662-671.
2. Rothfield, N.F. 1969. Serologic tests in rheumatic diseases. *Postgrad. Med.* 45:116-121.
3. Bartfield, H. 1960. Incidence and significance of seropositive tests for rheumatoid factor in non-rheumatoid diseases. *Ann. Intern. Med.* 52:1059-1066.
4. Froehlich, C.J., and R.C. Williams, Jr. 1980. Tests for detection of rheumatoid factors. In N.R. Rose, and H.F. Friedman (ed.), *Manual of clinical immunology*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Waaler, E. 1940. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 17:172-179.
6. Rose, H.M., C. Ragan, E. Pearce, and M.O. Lipman. 1948. Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 68:1-6.
7. Singer, J.M., and C.M. Plotz. 1956. The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am. J. Med.* 21:888-892.

TECHNICAL INFORMATION: In the United States telephone Technical Services, toll free (800) 638-8663.

© 1999 Becton Dickinson and Company
 Dispenstirs and RFscan are trademarks
 of Becton Dickinson and Company.

**BECTON
 DICKINSON**

Manufactured for / Fabriqué pour / Hergestellt für
 Prodotto per / Fabricado para:

Becton Dickinson Microbiology Systems

Becton Dickinson and Company
 7 Loveton Circle
 Sparks, MD 21152 USA



Becton Dickinson France S.A.

11 rue Aristide Bergès
 38800 Le Pont de Claix, France

MADE
 IN
 U.S.A.

88-0923-1

Révisé : 08-99

Produit enregistré auprès de l'ADM

FRANÇAIS

RFSCAN

**NOUVEAU !
 Contrôle positif
 titrable inclus**

APPLICATION

Le test au latex **RFscan** est destiné à la détermination qualitative ou quantitative des facteurs rhumatoïdes circulants.

RESUME ET EXPLICATION

Les facteurs rhumatoïdes sont des anticorps appartenant à diverses classes d'immunoglobulines et réagissent contre les spécificités du fragment Fc des molécules d'IgG. Le facteur rhumatoïde sérique (RF) apparaît le plus souvent, et au titre le plus élevé, chez les patients atteints d'arthrite rhumatoïde systémique chronique.¹ Ces auto-anticorps sont détectés chez environ 70 % des patients adultes atteints d'arthrite rhumatoïde.² Des mesures thérapeutiques peuvent supprimer les manifestations inflammatoires provoquées par l'affection et apporter une aide en réduisant le dysfonctionnement musculosquelettique. Les tests sérologiques de détection précoce du facteur rhumatoïde ont, par conséquent, d'importantes applications cliniques.

On a montré que de nombreux états malades autres que l'arthrite rhumatoïde donnent parfois des résultats de facteurs rhumatoïdes positifs. Certains essais ont donné des résultats positifs chez des patients atteints de sarcoïdose disséminée, de syphilis, d'hypertension essentielle et d'hépatite.^{1,3} De plus, un petit nombre de sujets sains, en particulier des personnes âgées, peuvent aussi être porteurs du facteur rhumatoïde.⁴ En règle générale, ces individus présentent des titres très faibles de facteur rhumatoïde, ce qui permet de les distinguer des autres patients atteints d'arthrite rhumatoïde.

En utilisant des érythrocytes de mouton sensibilisés à la gammaglobuline de lapin, Waaler en 1940⁵ et Rose et al. en 1948⁶ ont mis en relation l'hémagglutination par le sérum humain et l'arthrite rhumatoïde. En 1956, Singer et Plotz⁷ ont éliminé de nombreuses variables associées aux érythrocytes de mouton en remplaçant les érythrocytes par des particules de latex biologiquement inertes enrobées de gammaglobulines. Cette méthode constitue la base du test au latex **RFscan**. Des améliorations dans la préparation et la stabilisation des particules sensibilisées ont eu pour conséquence une amélioration de la sensibilité et de la spécificité du test.

PRINCIPES DES METHODES

Le test au latex **RFscan** est basé sur l'agglutination de particules de latex semblables enrobées d'IgG par le sérum du patient contenant le facteur rhumatoïde. En présence de l'anticorps agglutinant (facteur rhumatoïde), les particules s'agrègent et forment des agrégats macroscopiques à la surface de la carte. En l'absence du facteur rhumatoïde, il ne se produit pas d'agglutination et la suspension de latex reste homogène.

REACTIFS

- Réactif A,** Antigène au latex **RFscan**, particules de copolymère vinyltoluène t-butylstyrène enrobées d'IgG humaines purifiées et thermo-agrégées ; en solution saline tamponnée à la glycine, contenant 0,01 % de thimérosal (agent conservateur).
- Réactif B,** Diluant d'échantillon **RFscan**, solution saline tamponnée à la glycine, contenant 0,01 % de thimérosal (agent conservateur).
- Contrôle +,** Contrôle positif **RFscan** (titrable), sérum humain dilué contenant le facteur rhumatoïde dans une solution saline tamponnée au phosphate, contenant 0,01 % de thimérosal (agent conservateur). Voir la carte de valeurs du test pour information sur le titre et l'unité internationale (UI/mL).
- Contrôle -,** Contrôle négatif **RFscan**, sérum humain dilué dans une solution saline tamponnée au phosphate, contenant 0,01 % de thimérosal (agent conservateur).

Précautions : diagnostic *in vitro*

Réactifs : utiliser avant la date de péremption. Après avoir sorti les réactifs du réfrigérateur, les laisser se réchauffer à température ambiante (entre 15 et 30 °C) avant de les utiliser. NE PAS mélanger des réactifs provenant de coffrets portant des numéros de lot différents.

Il peut être nécessaire d'agiter vigoureusement l'antigène au latex **RFscan** pour le remettre totalement en suspension. Garder le flacon hermétiquement fermé quand vous ne vous en servez pas pour éviter l'évaporation du milieu de suspension. La suspension doit être laiteuse et homogène. Ne pas utiliser le réactif s'il présente des signes de floculation.

Pour garantir une distribution en gouttes correcte, les flacons distributeurs de réactifs doivent être maintenus verticalement, de manière à ne distribuer qu'une goutte à la fois.

Contrôles : ne pas utiliser le coffret si les contrôles positif et négatif ne donnent pas les résultats appropriés.

Les sérums de contrôle sont fabriqués à partir de sang humain, qui a satisfait aux tests prouvant l'absence de contamination par le virus HIV (virus d'immunodéficience humaine) et par HBsAg (antigènes de surface de l'hépatite B) exigés par la FDA (U.S. Food and Drug Administration).

AVERTISSEMENT : étant donné qu'aucune méthode d'analyse ne peut apporter une garantie absolue de l'absence de l'HIV, du virus de l'hépatite B ou d'autres agents infectieux, LES ECHANTILLONS ET CES REACTIFS DEVRONT ETRE MANIPULES COMME S'ILS ETAIENT SUSCEPTIBLES DE TRANSMETTRE UNE MALADIE INFECTIEUSE. La U.S. Food and Drug Administration recommande de manipuler ce matériel avec grande prudence (niveau de sécurité 2 – voir manuel des U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH), *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*).

Tests sur carte : les cartes doivent être bien plates pour donner des réactions justes. Si nécessaire les aplatir en les faisant bomber dans le sens inverse de l'incurvation. Bien veiller à ne pas laisser d'empreintes de doigts sur les zones test car tout dépôt gras risque de fausser les résultats. N'utiliser chaque carte qu'une seule fois, puis la jeter. Conserver les cartes neuves dans l'emballage d'origine à l'abri de l'humidité et à température ambiante.

Lecture des résultats du test : lire immédiatement les résultats sous une lampe à incandescence de forte intensité. L'éclairage fluorescent est généralement insuffisant pour distinguer l'agglutination lorsque la réaction est faible. Il est déconseillé d'utiliser un système de grossissement pour lire les résultats.

Conservation des réactifs : réfrigérer à une température comprise entre 2 et 8 °C. NE PAS CONGELER. Les remettre bouchés au réfrigérateur après usage.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons sérologiques doivent être prélevés en conditions stériles. Laisser le sang total coaguler, le centrifuger de façon à ôter la matière particulière du sérum. Décanter sans tarder. Les échantillons peuvent être stockés au réfrigérateur pendant plusieurs jours ou congelés à -20 °C pour un stockage de longue durée. Il est déconseillé de congeler et décongeler plusieurs fois le sérum. L'emploi d'échantillons hémolysés, nettement lipémiques ou contaminés peut être la source de difficultés dans l'interprétation des résultats du test.

Aucune préparation du malade n'est requise avant le prélèvement de l'échantillon.

MODE OPERATOIRE

Relire les paragraphes "Précautions" et "Prélèvement et préparation des échantillons" avant de procéder au test. Lors de l'analyse, le plan de travail, les réactifs, les échantillons et les composants du test doivent tous être à température ambiante (entre 20 et 25 °C).

Matériel fourni :	N° 265000 (40 tests)	N° 265001 (100 tests)
Réactif A , Antigène figé sur latex RFscan ,	2,0 mL	5,5 mL
Réactif B , Diluant d'échantillon RFscan ,	14,0 mL	2 x 60,0 mL
Contrôle + , Contrôle positif RFscan (sérum humain),	1,0 mL	1,5 mL
Contrôle - , Contrôle négatif RFscan (sérum humain),	1,0 mL	1,5 mL
Tests sur carte ,	8	8
Information sur les valeurs du test ,	1	1
Dispensstirs , compte-gouttes/applicateur	50	100

Matériel non-fourni : micropipette avec embouts jetables de 50 et 100 µL (voir "matériel disponible"), pipette sérologique (1 ou 2 mL) ou micropipette à volume réglable (1000 µL), tubes à essais de 12 x 75 mm et portoir.

L'équipement et le matériel de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation des échantillons sérologiques sont également nécessaires.

Aperçu de la méthode :

Le test au latex **RFscan** peut être utilisé pour une estimation qualitative ou quantitative du facteur rhumatoïde dans le sérum du patient. Le test de dépistage utilise du sérum du patient non dilué ; si l'agglutination est évidente, diluer l'échantillon au 1:20 à l'aide du diluant d'échantillon **RFscan** fourni avec le coffret et recommencer le test. **Seuls les patients dont les échantillons restent positifs au 1:20 sont considérés facteurs rhumatoïdes positifs.** Ces sérums peuvent être ultérieurement analysés par la méthode de titration sur carte décrite dans la rubrique "Quantification (méthode de titration sur carte)".

INTERPRETATION DES RESULTATS DU TEST

Dépistage (qualitatif) :

1. Marquer la carte pour identifier les contrôles et tous les échantillons devant être testés.
2. Placer une goutte de **Contrôle +** et une goutte de **Contrôle -** sur le cercle approprié de la carte.
3. Ajouter une goutte de sérum sur un cercle non occupé de la carte, en utilisant un dispositif **Dispensstirs** distinct pour chaque sérum de patient.
4. Remettre le **Réactif A** en suspension en agitant vigoureusement. Ajouter une goutte de **Réactif A** à chaque sérum (patients et contrôles) sur la carte. Mélanger chaque cercle de sérum avec l'extrémité plate du dispositif **Dispensstirs** correspondant, étaler le contenu sur toute la surface du cercle du test. Eviter une contamination des zones de test des cercles adjacents.
5. Imprimer à la carte un léger mouvement de rotation pendant 60 s tout en observant si une agglutination se produit en remuant la carte test de façon à ce que le flux de latex à travers chaque zone de test soit bien visible.

INTERPRETATION DES RESULTATS DU TEST

Test qualitatif : le contrôle positif doit indiquer une agglutination et le contrôle négatif aucune agglutination (Figure 1).

NOTA : LES ECHANTILLONS NON DILUES PRESENTANT UNE AGGLUTINATION DOIVENT ETRE DILUES AU 1:20 ET RETESTES. SEULS LES PATIENTS DONT LES ECHANTILLONS RESTENT POSITIFS AU 1:20 SONT CONSIDERES FACTEURS RHUMATOIDES POSITIFS.

Quantification (Méthode de titration sur carte) : suivre les étapes de 1 à 11 pour chaque sérum (ou contrôle) devant être testé. Utiliser une pipette différente ou un embout différent pour chaque patient. Nous recommandons la grande carte de test pour l'utilisation de la méthode de titration avec la carte.

1. Etiqueter un tube à essai pour chaque patient (ou contrôle) devant être testé.
2. Déposer 1,9 mL de **Réactif B** dans chaque tube.
3. Déposer 100 µL de sérum du patient (ou du contrôle) dans le tube correspondant. Bien mélanger. Chaque tube contient maintenant une dilution au 1:20 du sérum du patient (ou du contrôle).
4. Pipetter 50 µL du **Réactif B** dans les cercles de test 2 à 6.
5. Pipetter 50 µL de la dilution au 1:20 du sérum du patient (ou du contrôle) dans le cercle de test 1.
6. Pipetter 50 µL de la dilution au 1:20 du sérum du patient (ou du contrôle) dans le cercle de test 2. Mélanger le contenu du cercle de test par plusieurs cycles d'aspiration/reflux en employant la pipette.
7. En utilisant le même embout, aspirer 50 µL du mélange du cercle de test 2 et les déposer dans le cercle de test 3. Mélanger comme précédemment et transférer 50 µL du mélange dans le cercle 4.
8. Continuer la procédure de mélange et de transfert jusqu'au cercle 6.
9. Ôter 50 µL du cercle 6.
10. Remettre le **Réactif A** en suspension en agitant vigoureusement. Ajouter une goutte de **Réactif A** à chaque cercle. Mélanger et répartir le contenu dans le cercle entier en utilisant l'extrémité plate du dispositif **Dispensstirs** propre.
11. Imprimer à la carte un léger mouvement de rotation pendant 60 s tout en observant si une agglutination se produit en remuant la carte test de façon à ce que le flux de latex à travers chaque zone de test soit bien visible. Le titre est déterminé par le dernier cercle à présenter une agglutination.

N° de cercle	Dilution	N° de cercle	Dilution
1	1:20	4	1:160
2	1:40	5	1:320
3	1:80	6	1:640

Figure 1

NEGATIF POSITIF

Remarques sur la méthode : un allongement de l'incubation à plus de 1 min peut être à l'origine de résultats faux positifs dus à l'évaporation du mélange sur la carte.

DETERMINATION DES RESULTATS

Les résultats sont obtenus en établissant si une agglutination s'est produite dans les cercles de tests. L'observation d'un agrégat nettement visible à l'oeil nu de particules de latex lorsque la carte est remuée d'avant en arrière constitue un résultat positif. SEULS LES PATIENTS DONT LES ECHANTILLONS RESTENT POSITIFS AU 1:20 SONT CONSIDERES FACTEURS RHUMATOIDES POSITIFS. Un mélange laiteux et homogène sans agglutination visible constitue un résultat négatif. Une agglutination observée sur un sérum non dilué mais pas sur un sérum dilué au 1:20 constitue également un résultat négatif. Par la méthode de titration sur carte, le titre est déterminé comme étant la plus grande dilution donnant une lecture positive.

Le contrôle positif **RFscan** peut être rapporté à la Préparation internationale de référence de la OMS. En utilisant le contrôle positif **RFscan** comme un étalon secondaire, les résultats peuvent être exprimés en UI/mL selon la formule suivante :

$$\text{Echantillon UI/mL} = \frac{\text{Contrôle positif en UI/mL} \times \text{titre de l'échantillon}}{\text{titre du contrôle}}$$

Pour information sur l'UI/mL du contrôle positif, consulter la carte de valeurs du test ci-jointe.

Contrôle de qualité: Un contrôle positif et un contrôle négatif sont fournis avec chaque coffret **RFscan**. Le contrôle positif devrait montrer une agglutination alors que le contrôle négatif ne devrait pas montrer d'agglutination. Si la méthode de la carte de titration est utilisée, le contrôle positif devrait montrer une agglutination jusqu'au titre donné sur la carte de valeurs du test.

LIMITES DES METHODES

L'importance clinique de tout résultat de test dépend de sa relation avec les autres données médicales. Le diagnostic et la stratégie thérapeutique d'une maladie doivent être fondés sur une évaluation de toutes les informations ayant trait au patient.

VALEURS ESCOMPTEES

Le facteur rhumatoïde est présent dans les sérums de la plupart des patients atteints d'arthrite rhumatoïde classique. Bien qu'un test positif permette de soupçonner fortement la présence d'arthrite rhumatoïde, il ne permet pas le diagnostic étant donné que le facteur rhumatoïde apparaît chez un petit pourcentage de sujets sains et chez quelques patients atteints d'autres affections.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

La comparaison du test au latex **RFscan** et d'une méthode d'agglutination d'hématies de mouton disponible dans le commerce et d'une autre détermination par réaction au latex également disponible dans le commerce a été effectuée sur des patients dont l'arthrite rhumatoïde avait été constatée cliniquement et sur des patients atteints de maladies auto-immunes ou du tissu conjonctif y compris le lupus érythémateux systémique, l'ostéoarthritis, la sclérose systémique, la fibromyosite, la vasculite et la polymyalgie. Des 121 résultats négatifs obtenus par réaction d'agglutination au latex **RFscan**, tous se sont révélés négatifs, avec un des tests de réaction au latex leader sur le marché, un échantillon était tout juste positif (c'est-à-dire qu'il présentait le plus petit titre possible) par hémagglutination. De même, 25 résultats positifs déterminés à l'aide du test **RFscan** se sont tous révélés positifs, que ce soit par hémagglutination ou par une autre méthode de réaction d'agglutination au latex.

MATERIEL DISPONIBLE

N° cat.	Description	N° cat.	Description
265000	Coffret RFscan pour 40 tests (<i>qualitatif</i>).	273888	Micropipette de Becton Dickinson , volume calibré de 100 µL.
265001	Coffret RFscan pour 100 tests (<i>quantitatif</i>).	273310	Embouts de pipette, coffret de 1000.
273887	Micropipette de Becton Dickinson , volume calibré de 50 µL.	272905	Dispenstirs , 0,05 mL, coffret de 500.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique "References" du texte anglais.

**BECTON
DICKINSON**

Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

88-0923-1

Revidiert: 08-99

DEUTSCH

RFSCAN

NEU!
Beinhaltet titrierbare
positive Kontrolle

VERWENDUNGSZWECK

Der **RFscan**-Latextest ist zum qualitativen oder quantitativen Nachweis von zirkulierenden Rheumafaktoren bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Rheumafaktoren sind Antikörper, die verschiedenen Immunglobulin-Klassen angehören und gegen spezifische Bereiche in der Fc-Region der IgG-Moleküle gerichtet sind. Der Serum-Rheumafaktor (RF) erscheint am häufigsten und in den höchsten Titern bei Patienten, die an primär-chronischer rheumatoider Arthritis leiden.¹ Diese Autoantikörper sind bei ungefähr 70 % der an rheumatoider Arthritis erkrankten Erwachsenen nachweisbar.² Durch therapeutische Maßnahmen können die entzündlichen Manifestationen dieser Krankheit unterdrückt und die Dysfunktion der Skelettmuskulatur auf ein Minimum beschränkt werden. Der Frühnachweis von RF anhand serologischer Untersuchungen ist daher von signifikanter klinischer Bedeutung.

Außer rheumatoider Arthritis ergeben auch viele andere Krankheiten gelegentlich seropositive RF-Resultate. Positive RF-Testergebnisse wurden in Patienten mit disseminierter Sarkoidose, Syphilis, idiopathischem Bluthochdruck und Hepatitis beobachtet.^{1,3} RF kann außerdem bei einer kleinen Anzahl gesunder, vor allem älterer Personen nachgewiesen werden.⁴ Diese Personen weisen in der Regel sehr tiefe RF Titer auf und können aus diesem Grunde gewöhnlich von Patienten mit rheumatoider Arthritis unterschieden werden.

Die durch Humanserum bewirkte Hämagglutination von mit Kaninchen-Gammaglobulin sensibilisierten Schaferythrozyten wurde im Jahr 1940 von Waaler⁵ und im Jahr 1948 von Rose und Kollegen⁶ mit rheumatoider Arthritis in Verbindung gebracht. Singer und Plotz⁷ eliminierten im Jahr 1956 viele der mit Schaferythrozyten verbundenen Variablen, indem sie die Erythrozyten durch biologisch inerte, mit Gammaglobulin bedeckte Latexpartikel ersetzten. Diese Methode bildet die Grundlage für den **RFscan**-Latextest. Verfeinerungen in der Zubereitung und Stabilisierung von sensibilisierten Partikeln haben zu verbesserter Empfindlichkeit und Spezifität des Tests geführt.

VERFAHRENSPRINZIP

Der **RFscan**-Latextest stützt sich auf die Agglutination von uniformen, IgG-bedeckten Latexreagenzpartikeln mit Patientenserum, das Rheumafaktoren enthält. In der Gegenwart von agglutinierenden Antikörpern (RF) aggregieren die Latexpartikel und bilden makroskopisch sichtbare Klümpchen auf der Oberfläche der Testkarte. In der Abwesenheit von RF tritt keine Agglutination ein und das Latexreagenz bleibt homogen.

REAGENZNIEN

Reagenz A, RFscan-Latex-Antigen, Vinyltoluol t-Butylstyrol Mischpolymerisatpartikel, mit hitzeaggregierten, gereinigten Human-IgG beschichtet; in glycingepuffert Kochsalzlösung, mit 0,01 % Thimerosal (Konservierungsmittel).

Reagenz B, RFscan-Verdünnungspuffer, glycingepufferte Kochsalzlösung, mit 0,01 % Thimerosal (Konservierungsmittel).

Kontrolle +, RFscan positive Kontrolle (titrierbar), Humanserum mit Rheumafaktoren, in phosphatgepuffert Kochsalzlösung, mit 0,01 % Thimerosal (Konservierungsmittel). Informationen zu Titer und internationaler Einheit (IU/mL) sind der Assay-Wertekarte zu entnehmen.

Kontrolle -, RFscan negative Kontrolle, verdünntes Humanserum, in phosphatgepuffert Kochsalzlösung, mit 0,01 % Thimerosal (Konservierungsmittel).

Sicherheitshinweise: *In-Vitro*-Diagnostik

Reagenzien: Verfallsdatum beachten. Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (15 bis 30 °C) erwärmen. AUSSCHLIESSLICH Reagenzien derselben Chargen-Nr. verwenden.

Um das **RFscan**-Latex-Antigen gründlich zu resuspendieren, muß das Fläschchen ggf. kräftig geschüttelt werden. Das Reagenzfläschchen nach Gebrauch wieder gut verschließen, um ein Verdunsten des Suspensionsmediums zu verhindern. Die Suspension sollte milchig und homogen erscheinen. Falls Anzeichen von Flockenbildung ersichtlich sind, das Reagenz nicht verwenden.

Zum Einstellen einer exakten Tropfengröße muß das Tropffläschchen beim Auftragen der Reagenzien aufrecht gehalten werden, so daß nur ein freifallender Tropfen auf einmal aufgetragen wird.

Kontrollseren: Kit nicht verwenden, wenn positive und negative Kontrollen falsche Ergebnisse liefern.

Die Kontrollseren werden aus Humanblut gewonnen, das zuvor mit einer von der FDA (U.S. Food and Drug Administration) genehmigten Methode zum Nachweis des HIV-Antikörpers (human immunodeficiency virus) sowie von HBsAg (hepatitis B surface antigen) getestet und als nicht reaktiv befunden wurde.

ACHTUNG: Da keine Testmethode mit vollkommener Sicherheit dafür garantieren kann, daß kein HIV, Hepatitis-B-Virus oder andere Infektionserreger vorhanden sind, SOLLTEN UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND REAGENZNIEN WIE POTENTIELLE INFEKTIONSERREGER GEHANDHABT WERDEN. Die U.S. Food and Drug Administration empfiehlt, solche Materialien gemäß Biosicherheitsstufe 2 zu handhaben. Auf die Biosicherheitsstufe 2 wird im Handbuch der U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH), *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, Bezug genommen.

Testkarten: Zur Erzielung eines korrekten Testergebnisses ist darauf zu achten, daß die Testkarte nicht gebogen ist. Karte, falls erforderlich, vorsichtig entgegen der Wölbung gerade biegen. Testfelder nicht berühren, da eventuelle Fettspuren zu falschen Ergebnissen führen können. Testkarte nur einmal verwenden und dann verwerfen. Karten in der Originalpackung an einem trockenen Ort bei Raumtemperatur aufbewahren.

Ablezen der Testergebnisse: Die Ergebnisse sollten sofort unter einer starken Lichtquelle abgelesen werden. Leuchtstofflampen reichen gewöhnlich nicht aus, um minimal reaktive Ergebnisse erkennen zu können. Eine Lupe o.ä. wird zum Ablezen der Testergebnisse nicht empfohlen.

Aufbewahrung der Reagenzien: Bei 2 bis 8 °C kühl aufbewahren. NICHT EINFRIEREN. Reagenzfläschchen nach Gebrauch wieder verschließen und im Kühlschrank aufbewahren.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Serologische Proben sollten unter aseptischen Bedingungen entnommen werden. Vollblut koagulieren lassen, danach zentrifugieren, um partikuläre Bestandteile vom Serum zu trennen. Sofort dekantieren. Die Proben können mehrere Tage lang im Kühlschrank aufbewahrt werden. Falls eine längere Lagerung erforderlich ist, müssen die Proben bei -20 °C eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Serum ist nicht zu empfehlen. Bei der Verwendung von hämolysierten, ausgeprägt lipämischen oder kontaminierten Proben können Schwierigkeiten bei der Interpretation der Testergebnisse auftreten.

Eine spezielle Behandlung des Patienten vor der Probenentnahme ist nicht erforderlich.

VERFAHREN

Vor der Durchführung des Tests die Abschnitte "Sicherheitshinweise" sowie "Probenentnahme und Vorbereitung" gut durchlesen. Die Testfläche, alle Reagenzien, das gesamte Untersuchungsmaterial sowie die Verbrauchsmaterialien sollten bei Gebrauch Raumtemperatur (20 – 25 °C) aufweisen.

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

	Best.-Nr. 265000 (40 Tests)	Best.-Nr. 265001 (100 Tests)
Reagenz A, RFscan -Latex-Antigen,	2,0 mL	5,5 mL
Reagenz B, RFscan -Verdünnungspuffer,	14,0 mL	2 x 60,0 mL
Kontrolle +, RFscan positives Kontrollserum (Humanserum),	1,0 mL	1,5 mL
Kontrolle -, RFscan negatives Kontrollserum (Humanserum),	1,0 mL	1,5 mL
Testkarten,	8	8
Assay-Werteinformation,	1	1
Dispenstirs -Tropfer/Verteiler	50	100

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Mikropipette mit Einwegspritzen, 50 und 100 µL-Abgabe (s. "Lieferbare Produkte"), serologische Pipetten (1 oder 2 mL) oder einstellbare Mikropipette (1000 µL), 12 x 75 mm Teströhrchen und Ständer.

Ferner werden die zur Vorbereitung, Lagerung und Verarbeitung der klinischen Proben verwendeten Geräte und Laborutensilien benötigt.

Verfahrensübersicht:

Der **RFscan**-Latextest kann zu einer qualitativen oder quantitativen Schätzung von Rheumafaktoren in Patientenserum verwendet werden. Im Screening-Test wird unverdünntes Patientenserum verwendet. Falls Agglutination augenscheinlich ist, sollte der Test wiederholt werden, wobei die Proben mit dem in der Testpackung enthaltenen **RFscan**-Verdünnungspuffer im Verhältnis 1:20 zu verdünnen sind. **Als RF-positiv sind ausschließlich diejenigen Patientenproben zu betrachten, die bei einer 1:20-Verdünnung positiv bleiben.** Diese Seren können weiter mit der unter "Quantitative Bestimmung (Karten-Titrationsmethode)" beschriebenen Karten-Titrationsmethode untersucht werden.

DURCHFÜHRUNG DER TESTS**Screening-Test (Qualitativ):**

1. Testkarte kennzeichnen, damit die Kontrollen und alle zu untersuchenden Proben klar identifizierbar sind.
2. Je einen Tropfen der **Kontrolle +**, bzw. der **Kontrolle -**, auf das entsprechende runde Testfeld auftragen.
3. Je einen Tropfen Serum auf ein freies Testfeld geben. Für jedes individuelle Patientenserum einen separaten **Dispenstirs**-Tropfer verwenden.
4. **Reagenz A** durch kräftiges Schütteln gründlich resuspendieren. Einen Tropfen **Reagenz A** in jedes Serum-Testfeld (Patienten und Kontrollen) geben. Mit dem flachen Ende des **entsprechenden Dispenstirs**-Tropfers jedes Serum-Testfeld mischen und den Inhalt über die ganze runde Testfeldfläche verteilen. Kreuzkontamination von verschiedenen Testfeldern in benachbarten Kreisen vermeiden.
5. Die Testkarte 60 Sekunden lang mit sanfter Bewegung hin- und herschaukeln und dabei auf Agglutination überprüfen. Die Testkarte schräg halten, so daß die Verteilung der Latexsuspension über das Testfeld leicht beobachtet werden kann.

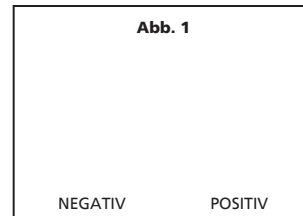
AUSWERTUNG DER TESTERGEBNISSE

Qualitativer Test: Das positive Kontrollserum sollte sichtbare Agglutination aufweisen, während das negative Kontrollserum keine Agglutination aufweisen sollte (Abb. 1).

HINWEIS: UNVERDÜNNT PROBEN, DIE AGGLUTINATION AUFWEISEN, MÜSSEN IM VERHÄLTNISS 1:20 VERDÜNNT UND ERNEUT GETESTET WERDEN. ALS RF-POSITIV SIND AUSSCHLIESSLICH DIEJENIGEN PATIENTENPROBEN ZU BETRACHTEN, DIE BEI EINER 1:20-VERDÜNNUNG POSITIV BLEIBEN.

Quantitative Bestimmung (Karten-Titrationsmethode): Für jedes Testserum (oder jede Kontrolle) Schritte 1 bis 11 durchführen. Für jeden Patienten eine neue Pipette oder eine neue Pipettenspitze verwenden. Die große Testkarte wird zur Durchführung der Karten-Titrationsmethode empfohlen.

1. Für jeden zu untersuchenden Patienten (oder für jede Kontrolle) ein Teströhrchen klar kennzeichnen.
2. In jedes Teströhrchen 1,9 mL **Reagenz B** geben.
3. 100 µL Patientenserum (oder Kontrolle) in das entsprechende Teströhrchen geben. Den Inhalt gut mischen. Jedes Teströhrchen enthält jetzt eine 1:20-Verdünnung des Patientenserums (oder der Kontrolle).
4. 50 µL **Reagenz B** auf die runden Testfelder 2 bis 6 auftragen.
5. 50 µL des im Verhältnis 1:20 verdünnten Patientenserums (oder der verdünnten Kontrolle) auf das Testfeld 1 pipettieren.
6. 50 µL des im Verhältnis 1:20 verdünnten Patientenserums (oder der verdünnten Kontrolle) auf das Testfeld 2 pipettieren. Den Inhalt des Testfeldes durch mehrmaliges Aufziehen und Entleeren der Pipette mischen.
7. Mit derselben Pipette und derselben Spitze 50 µL der Mischung von Testfeld 2 aufziehen und auf das Testfeld 3 geben. Wie zuvor mischen und 50 µL dieser Mischung auf Testfeld 4 übertragen.
8. Dieses Misch- und Übertragungsverfahren bis zu Testfeld 6 fortführen.
9. Vom Testfeld 6 sollen 50 µL verworfen werden.
10. **Reagenz A** durch kräftiges Schütteln gründlich resuspendieren. Einen Tropfen **Reagenz A** in jedes Testfeld geben. Den Inhalt gut mischen und mit Hilfe des flachen Endes eines frischen **Dispenstirs**-Tropfers gleichmäßig im ganzen Testfeld verteilen.
11. Die Testkarte 60 Sekunden lang mit sanfter Bewegung hin- und herschaukeln und dabei auf Agglutination überprüfen. Die Testkarte schräg halten, so daß die Verteilung der Latexsuspension über das Testfeld leicht beobachtet werden kann. Der Titer wird durch das letzte runde Testfeld, das Agglutination aufweist, bestimmt.



Testfeld Nr.	Verdünnung	Testfeld Nr.	Verdünnung
1	1:20	4	1:160
2	1:40	5	1:320
3	1:80	6	1:640

Verfahrenshinweis: Inkubationszeiten von mehr als einer Minute können falsch-positive Testergebnisse ergeben, die auf die Verdunstung der Testmischung auf der Karte zurückzuführen sind.

BESTIMMUNG DER ERGEBNISSE

Testergebnisse werden anhand der stattgefundenen bzw. nicht stattgefundenen Agglutination in den Testfeldern bestimmt. Bei einem positiven Testergebnis entstehen makroskopische Klümpchen von Latexpartikeln, die klar erkennbar sind, wenn die Testkarte einige Male in beide Richtungen geneigt wird. ALS RF-POSITIV SIND AUSSCHLIESSLICH DIEJENIGEN PATIENTEN-PROBEN ZU BETRACHTEN, DIE BEI EINER 1:20-VERDÜNNUNG POSITIV BLEIBEN. Eine milchige homogene Mischung ohne sichtbare Agglutination bedeutet ein negatives Testergebnis. Agglutination, die nur im unverdünnten, nicht aber im 1:20 verdünnten Serum ersichtlich ist, ist ebenfalls als negativ zu betrachten. Bei der Karten-Titrationsmethode ergibt sich der Titer aus der höchsten Verdünnungsstufe, die ein positives Resultat ergibt.

Die **RFscan** positive Kontrolle ist im internationalen Kontrollpräparat der WHO (Weltgesundheitsorganisation) nachweisbar. Bei Verwendung der **RFscan** positiven Kontrolle als sekundären Standard können die Ergebnisse in IU/mL in folgender Formel ausgedrückt werden:

$$\text{Probe IU/mL} = \frac{\text{IU/mL positive Kontrolle} \times \text{Titer der Probe}}{\text{Titer der Kontrolle}}$$

Informationen zu IU/mL der positiven Kontrolle sind der beiliegenden Assay-Wertekarte zu entnehmen.

Qualitätskontrolle: Eine positive und eine negative Kontrolle werden mit jedem **RFscan** Kit mitgeliefert. Die positive Kontrolle sollte eine Agglutination aufweisen, während die negative Kontrolle keine Agglutination zeigen sollte. Bei Anwendung der Karten-Titrationsmethode sollte die positive Kontrolle mit dem Titer, der in der Assay-Werteinformation angegeben wird, Agglutination aufweisen.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Die klinische Bedeutung eines Testergebnisses hängt von dessen Beziehung zu anderen medizinischen Fakten ab. Diagnose und Behandlung der Erkrankung sollte sich auf die wissenschaftliche Auswertung aller wichtigen Patienteninformationen stützen.

ZU ERWARTENDE WERTE

Rheumafaktoren finden sich in den Seren der meisten Patienten mit klassischer rheumatoider Arthritis. Obwohl ein positives RF-Testergebnis stark auf rheumatoide Arthritis hinweist, ist es nicht diagnostisch für diese Krankheit, da Rheumafaktoren auch bei einem kleinen Prozentsatz gesunder Personen, sowie bei Patienten mit anderen Krankheiten auftreten.

LEISTUNGSMERKMALE

Der **RFscan**-Latextest wurde mit einem kommerziell erhältlichen Schaferythrozyten-Agglutinationstest und mit einem anderen kommerziell erhältlichen Latextest verglichen. In diese Studie einbezogen wurden Patienten mit klinisch diagnostizierter rheumatoider Arthritis und Patienten mit Autoimmun- oder Bindegeweberkrankungen, einschließlich Lupus erythematoses disseminatus, Osteoarthritis, systemische Sklerose, Fibromyositis, Vaskulitis und Polymyalgie. Alle mit dem **RFscan**-Latexagglutinationstest erhaltenen 121 negativen Resultate wurden als negativ bestätigt, wenn ein führender kommerzieller Latexagglutinationstest verwendet wurde. Eine der Proben war im Hämagglutinationstest grenzfall-positiv (d.h. tiefster möglicher Titer). Gleichermaßen wurden alle 25 im **RFscan**-Test positiven Resultate sowohl im Hämagglutinationstest als auch im Latexagglutinationstest als positiv bestätigt.

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung	Best.-Nr.	Beschreibung
265000	RFscan Kit für 40 Tests (<i>Qualitativ</i>).	273888	Becton Dickinson -Mikropipettor, 100 µL Festvolumen.
265001	RFscan Kit für 100 Tests (<i>Qualitativ</i>).	273310	Pipettenspitzen, Packung mit 1000 Stück.
273887	Becton Dickinson -Mikropipettor, 50 µL Festvolumen.	272905	Dispentirs -Pipetten, 0,05 mL, Packung mit 500 Stück.

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.

**BECTON
DICKINSON**

Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

88-0923-1
Rivisto: 08-99

ITALIANO

RFSCAN

NUOVO!
Include il controllo
positivo titolabile

USO PREVISTO

Il test al lattice **RFscan** serve per la determinazione qualitativa o quantitativa dei fattori reumatoidi circolanti.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

I fattori reumatoidi sono anticorpi appartenenti a varie classi di immunoglobuline diretti contro determinanti antigenici presenti sulla porzione Fc delle IgG. La forma morbosa in cui il fattore reumatoide (RF) compare più spesso e con i titoli più elevati nel siero è l'artrite reumatoide, un'affezione cronica e sistemica:¹ circa il 70% dei pazienti adulti affetti da artrite reumatoide presenta questi autoanticorpi nel siero.² Dal momento che una adeguata terapia riesce a sopprimere le manifestazioni infiammatorie della malattia e a migliorare la funzionalità muscolo-scheletrica, i test sierologici per la diagnosi precoce del fattore reumatoide hanno significative applicazioni cliniche.

È stato dimostrato che occasionalmente molti stati infiammatori diversi dall'artrite reumatoide possono comportare sieropositività per il fattore reumatoide. Alcuni test hanno dato positività in caso di sarcoidosi disseminata, sifilide, ipertensione essenziale ed epatite;^{1,3} inoltre il fattore reumatoide è presente in una piccola percentuale di soggetti sani, per lo più anziani.⁴ Di norma, il titolo del fattore reumatoide in questi soggetti è molto basso ed è su tale base che possono essere differenziati dai pazienti affetti da artrite reumatoide.

Usando eritrociti di pecora sensibilizzati con gammaglobuline di coniglio, Waaler nel 1940⁵ e Rose e coll. nel 1948⁶ poterono stabilire una correlazione fra le proprietà emoagglutinanti del siero umano e la presenza di artrite reumatoide. Nel 1956, Singer e Plotz⁷ eliminarono la variabilità associata agli eritrociti di pecora sostituendoli con delle particelle inerti di lattice coperte con gammaglobuline. Questo metodo è alla base del test al lattice **RFscan**. Perfezionamenti nella preparazione e stabilizzazione delle particelle sensibilizzate hanno condotto a una aumentata sensibilità e specificità del test.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test al lattice **RFscan** si basa sull'agglutinazione di particelle di lattice omogenee, coperte con IgG, da parte di siero umano contenente il fattore reumatoide. In presenza dell'anticorpo agglutinante (il fattore reumatoide) le particelle si uniscono fra loro formando aggregati macroscopici sulla superficie del cartoncino. In assenza del fattore reumatoide, non si verifica agglutinazione e la sospensione di lattice rimane omogenea.

REAGENTI

Reagente A, Antigene al lattice **RFscan**, particelle di copolimeri di viniltoluene e t-butilstirene coperte con IgG umane purificate e aggregate al calore; in soluzione tampone con glicina e 0,01% di timerosal (conservante).

Reagente B, Diluente del campione **RFscan**, soluzione tampone con glicina e 0,01% di timerosal (conservante).

Controllo +, Controllo positivo **RFscan** (titolabile), siero umano diluito contenente il fattore reumatoide in soluzione tampone fosfato e 0,01% di timerosal (conservante). Vedere le informazioni riguardanti la Carta valori del dosaggio e l'Unità internazionale (UI/mL).

Controllo -, Controllo negativo **RFscan**, siero umano diluito in soluzione tampone fosfato e 0,01% di timerosal (conservante).

Precauzioni: Diagnostica *in vitro*

Reagenti: Non usare oltre la data di scadenza. Dopo averli tolti dal frigorifero, portare i reagenti a temperatura ambiente (dai 15 a 30° C) prima dell'uso. NON mescolare reagenti appartenenti a kit con diversi numeri di lotto.

Se necessario, scuotere vigorosamente per ottenere una risospensione completa del reagente **RFscan**. Dopo l'uso, conservare i flaconi ben chiusi per prevenire l'evaporazione della sospensione. La sospensione deve apparire lattescente ed omogenea; se mostra segni di flocculazione non va usata.

Per assicurare l'adeguata dispensazione a goccia, i flaconi dei reagenti devono essere tenuti in posizione verticale durante l'erogazione, dispensando una goccia per volta a caduta libera.

Controlli: Non usare il kit se i controlli positivo e negativo non danno risultati appropriati.

I controlli sierici derivano da sangue umano risultato non reattivo con una metodica approvata dalla FDA (U.S. Food and Drug Administration) per la determinazione degli anticorpi anti HIV (virus dell'immunodeficienza acquisita) e dell'HBsAg (antigene di superficie dell'epatite B).

ATTENZIONE: Poiché non esiste alcun test che possa garantire con certezza l'assoluta assenza del virus per l'epatite B, dell'HIV o di altri agenti infettivi, I CAMPIONI E I REAGENTI DEVONO ESSERE MANIPOLATI COME SE FOSSERO COMUNQUE IN GRADO DI TRASMETTERE MALATTIE INFETTIVE. L'U.S. Food and Drug Administration raccomanda che tale materiale venga manipolato in conformità con quanto previsto per il Livello di Sicurezza Biologica 2. Le norme in merito a tale Livello di Sicurezza Biologica 2 sono fornite dal manuale *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, diffuso dagli U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH).

Cartoncini per il dosaggio: I cartoncini devono essere piatti per poter dare reazioni corrette. Se necessario, si devono appiattare, ripiegandoli nel senso opposto a quello della piega. Evitare di lasciare l'impronta delle dita sulle aree di dosaggio del cartoncino poiché i depositi oleosi possono causare risultati scorretti nel test. Ogni cartoncino deve essere usato una volta sola. Conservare i cartoncini nell'imballaggio originale in luogo asciutto a temperatura ambiente.

Letture dei risultati del test: I risultati dovranno essere letti subito alla luce di una lampada ad incandescenza ad alta intensità. La luce fluorescente non permette in genere di distinguere i risultati debolmente positivi. Per la lettura dei risultati dei test non è necessario ricorrere all'ausilio di una lente di ingrandimento.

Conservazione dei reagenti: Conservare dai 2 agli 8° C. NON CONGELARE. I reagenti devono essere rimessi in frigorifero tappati quando non vengono utilizzati.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni sierologici vanno raccolti in condizioni di sterilità. Lasciar coagulare il sangue intero poi centrifugarlo per allontanare la componente particolata; decantare rapidamente il siero. Il siero si conserva per più giorni in frigorifero e può essere congelato a -20° C per tempi più lunghi. Cicli ripetuti di congelamento e scongelamento sono sconsigliabili; sieri emolizzati, vistosamente lipemici, o batteriologicamente contaminati possono rendere difficile l'interpretazione della lettura del test.

Per il prelievo dei campioni non è necessaria alcuna preparazione del paziente.

PROCEDURE

Consultare i paragrafi "Precauzioni" e "Raccolta e preparazione dei campioni" prima d'iniziare l'esecuzione del test. Prima dell'uso condizionare a temperatura ambiente (20 – 25° C) i cartoncini, i reagenti, i campioni da dosare e tutti i componenti da utilizzare nel dosaggio.

Materiali forniti:

	N° 265000 (40 test)	N° 265001 (100 test)
Reagente A, Antigene su latex RFscan,	2,0 mL	5,5 mL
Reagente B, Diluente del campione RFscan,	14,0 mL	2 x 60,0 mL
Controllo +, Controllo positivo RFscan (siero umano),	1,0 mL	1,5 mL
Controllo -, Controllo negativo RFscan (siero umano),	1,0 mL	1,5 mL
Cartoncini per il dosaggio,	8	8
Informazioni sui valori dell'analisi,	1	1
Dispensstirs, contagocce/applicatore	50	100

Materiali non forniti: Micropipette con puntale monouso da 50 e 100 µL (vedere "Disponibilità"), pipette sierologiche da 1 o 2 mL o a volume variabile fino a 1000 µL, provette 12 x 75 mm e portaprovette.

Si devono anche avere a disposizione le attrezzature di laboratorio necessarie per la preparazione, la conservazione e la manipolazione dei campioni sierologici.

Generalità procedurali:

Il test al lattice **RFscan** si presta a una stima sia qualitativa che quantitativa dei fattori reumatoidi nel siero dei pazienti. Il test di selezione usa il siero dei pazienti indiluito; se si evidenzia agglutinazione, diluire i campioni 1:20 con l'accluso diluente del campione **RFscan** e ripetere il test. **Vengono considerati positivi per il fattore reumatoide esclusivamente quei campioni di paziente che si confermano positivi dopo diluizione 1:20.** Su questi campioni si può procedere ulteriormente con il metodo di titolazione su cartoncino descritto alla voce "Test Quantitativo (titolazione su cartoncino)".

ESECUZIONE DEI TEST**Test qualitativo:**

1. Identificare sui cartoncini i controlli e campioni in esame.
2. Deporre una goccia di **Controllo +** e una di **Controllo -** nei cerchietti loro riservati.
3. Deporre una goccia di siero del paziente in un cerchietto disponibile sul cartoncino, usando un dispositivo **Dispensstirs** diverso per ogni paziente.
4. Rispondere il **Reagente A** agitando vigorosamente il flacone. Deporre una goccia di **Reagente A** su ogni goccia di siero già presente sul cartoncino (pazienti e controlli) e mescolare la sospensione di ogni cerchietto con l'estremità appiattita del corrispondente dispositivo **Dispensstirs**. Spargere il contenuto su tutta l'area del cerchietto senza contaminare i cerchietti adiacenti.
5. Far oscillare il cartoncino con movimento gentilmente rotatorio per 60 secondi, osservando ogni cerchietto per la comparsa dell'agglutinazione (inclinare la scheda in modo da poter osservare con facilità il lattice nel suo scorrimento verso un lato dell'area di test).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

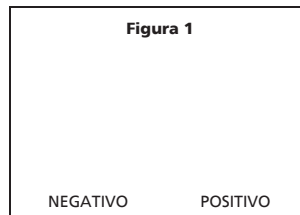
Test qualitativo: Il controllo positivo deve mostrare l'agglutinazione, mentre il controllo negativo non deve esibire alcuna agglutinazione (Figura 1).

NOTA: I CAMPIONI NON DILUITI CHE RISULTANO POSITIVI VANNO DILUITI 1:20 E RITESTATI. VENGONO CONSIDERATI POSITIVI PER IL FATTORE REUMATOIDE ESCLUSIVAMENTE QUEI CAMPIONI DI PAZIENTE CHE SI CONFERMANO POSITIVI DOPO DILUIZIONE 1:20.

Test quantitativo: Per ogni siero (o controllo) da titolare seguire i punti sottoriportati da 1 a 11. Cambiare la pipetta o il puntale per ogni paziente. Per il metodo di titolazione su cartoncino, si consiglia di usare il cartoncino modello grande.

1. Per ogni paziente (o controllo) da dosare identificare una provetta.
2. In ogni provetta dispensare 1,9 mL di **Reagente B**.
3. A ogni provetta aggiungere 100 µL di siero (o controllo) del paziente e mescolare bene. Ogni provetta contiene ora una diluizione 1:20 del siero (o controllo) del paziente.
4. In ogni cerchietto da 2 a 6 del cartoncino pipettare 50 µL di **Reagente B**.
5. Nel cerchietto 1 pipettare 50 µL di siero (o controllo) del paziente prediluito 1:20.
6. Nel cerchietto 2 pipettare 50 µL di siero (o controllo) del paziente prediluito 1:20 e mescolare bene con ripetute aspirazioni/erogazioni.
7. Sempre con lo stesso puntale aspirare 50 µL dal cerchietto 2, dispensarli nel cerchietto 3 mescolando come sopra e trasferire 50 µL della nuova diluizione nel cerchietto 4.
8. Procedere come sopra fino al cerchietto 6.
9. Scartare 50 µL dal cerchietto 6.
10. Rispondere il **Reagente A** agitando vigorosamente il flacone. Deporre una goccia di **Reagente A** su ogni cerchietto. Mescolare e dispensare bene sul cerchietto intero usando l'estremità appiattita di un dispositivo **Dispensstirs** pulito.
11. Far oscillare il cartoncino con movimento gentilmente rotatorio per 60 secondi, osservando ogni cerchietto per la comparsa dell'agglutinazione (inclinare la scheda in modo da poter osservare con facilità il lattice nel suo scorrimento verso un lato dell'area di test). Il titolo è dato dall'ultima diluizione che presenta agglutinazione.

Nota procedurale: Prolungando l'incubazione per un minuto o più potrebbero cominciare ad apparire dei falsi positivi dati dall'evaporazione della sospensione sul cartoncino.



N° di cerchietto	Diluizione	N° di cerchietto	Diluizione
1	1:20	4	1:160
2	1:40	5	1:320
3	1:80	6	1:640

**BECTON
DICKINSON**

DETERMINAZIONE DEI RISULTATI

Ai fini del risultato si valuta se è avvenuta l'agglutinazione nei cerchietti di reazione. Il risultato è positivo quando inclinando il cartoncino avanti e indietro si vedono chiaramente a occhio nudo gli agglutinati di particelle di lattice. **VENGONO CONSIDERATI POSITIVI PER IL FATTORE REUMATOIDE ESCLUSIVAMENTE QUEI CAMPIONI DI PAZIENTE CHE SI CONFERMANO POSITIVI DOPO DILUIZIONE 1:20.** Il test è negativo quando la sospensione resta lattescente e omogenea senza agglutinati visibili, e va pure considerata negativa l'agglutinazione presente sul siero intero ma che scompare alla diluizione 1:20. Nel metodo di titolazione su cartoncino, il titolo da refertare è rappresentato dall'ultima diluizione che dà una lettura positiva.

Il Controllo Positivo **RFscan** ha origine dalla Preparazione internazionale di riferimento ONU. Utilizzando il Controllo Positivo **RFscan** come standard secondario, i risultati possono essere espressi in UI/mL, come la formula seguente:

$$\text{Campione UI/mL} = \frac{\text{Controllo positivo UI/mL} \times \text{titolo di campione}}{\text{titolo di controllo}}$$

Consultare la Carta valori del dosaggio per ulteriori informazioni sul controllo positivo UI/mL

Controllo di qualità: Nel kit **RFscan** sono inclusi un controllo positivo e uno negativo. Il controllo positivo mostra l'agglutinazione, mentre quello negativo non la esibisce. Se viene usato il metodo del titolo del cartoncino, il controllo positivo mostra l'agglutinazione attraverso il titolo indicato nelle Informazioni sui valori dell'analisi.

LIMITAZIONI DELLE PROCEDURE

Il significato clinico di ogni singolo test va sempre valutato in rapporto agli altri dati disponibili. Diagnosi e trattamento vanno letti sulla base della valutazione globale di tutte le informazioni ricavabili dal paziente.

VALORI PREVISTI

Il fattore reumatoide è presente nel siero della maggior parte dei pazienti affetti da artrite reumatoide classica. Un fattore reumatoide positivo è fortemente indicativo di artrite reumatoide, ma non patogenomico perché lo si trova anche in una piccola percentuale di soggetti sani, oltre che in alcuni pazienti affetti da altre malattie.

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Il test al lattice **RFscan** è stato confrontato con un test di agglutinazione degli eritrociti di pecora e uno al lattice, entrambi reperibili in commercio, analizzando pazienti con artrite reumatoide clinicamente confermata, malattie autoimmuni o affezioni del collagene, come lupus eritematoso sistemico, osteoartrite, sclerodermia, fibromiositi, vasculiti e polimialgia. Dei 121 test risultati negativi all'agglutinazione al lattice con **RFscan**, tutti hanno dato pari esito con il test al lattice reperibile in commercio e uno solo ha presentato una positività borderline (cioè al titolo più basso) all'emoagglutinazione. Analogamente, dei 25 risultati positivi al test **RFscan**, tutti si sono confermati positivi sia all'emoagglutinazione che con un altro test al lattice.

DISPONIBILITÀ

N° di cat.	Descrizione	N° di cat.	Descrizione
265000	Kit RFscan da 40 test (<i>qualitativo</i>).	273888	Becton Dickinson Micropipettratrice, a volume fisso da 100 µL.
265001	Kit RFscan da 100 test (<i>qualitativo</i>).	273310	Puntali di pipetta, scatola da 1000.
273887	Becton Dickinson Micropipettratrice, a volume fisso da 50 µL.	272905	Dispenstirs , 0,05 mL, scatola da 500.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

**BECTON
DICKINSON**

Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

88-0923-1
Revisado: 08-99

ESPAÑOL

RFSCAN

¡NUEVO!
Control Positivo Incluido con
Posibilidad de Realizar
Concentraciones

USO PREVISTO

La prueba de látex **RFscan** está diseñada para la determinación cualitativa y cuantitativa de factores reumatoideos circulantes.

RESUMEN Y EXPLICACION

Los factores reumatoideos son anticuerpos de varias clases de inmunoglobulinas, los cuales están dirigidos contra especificidades en la porción Fc de las moléculas de IgG. El factor reumatoideo del suero (RF) aparece con mucha frecuencia, y en concentraciones más altas, en pacientes con la enfermedad sistémica y crónica artritis reumatoidea.¹ Estos autoanticuerpos son detectados en aproximadamente el 70% de los pacientes adultos con artritis reumatoidea.² Las medidas terapéuticas pueden suprimir las manifestaciones inflamatorias de la enfermedad y ayudar a minimizar anomalías musculoesqueléticas. Por lo tanto, las pruebas serológicas para la detección temprana del RF tienen aplicaciones clínicas significativas.

Se ha demostrado que muchos otros estados de enfermedades distintos a la artritis reumatoidea presentan en algunas ocasiones resultados seropositivos para RF. Algunos ensayos para RF han dado resultados positivos en pacientes con sarcoidosis diseminada, sífilis, hipertensión esencial y hepatitis.^{1,3} Además, un pequeño número de personas sanas, especialmente los ancianos, también pueden tener RF.⁴ Como norma, estos individuos muestran concentraciones muy bajas de RF y usualmente pueden ser distinguidos de esta manera de los pacientes con artritis reumatoidea.

Utilizando eritrocitos de oveja sensibilizados con gammaglobulina de conejo, Waaler en 1940⁵ y Rose y colaboradores en 1948⁶ descubrieron la relación entre la hemaglutinación del suero humano y la enfermedad artritis reumatoidea. En 1956, Singer y Plotz⁷ eliminaron muchas de las variables asociadas con los eritrocitos de oveja, reemplazando estos eritrocitos con partículas de látex biológicamente inertes cubiertas con gammaglobulina. Este método sirve como base para la prueba de látex **RFscan**. El refinamiento en la preparación y estabilización de partículas sensibilizadas han conducido al mejoramiento en la sensibilidad y especificidad de esta prueba.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo de látex **RFscan** está basado en la aglutinación de partículas de látex uniformes cubiertas con IgG del suero del paciente que contiene factor reumatoideo. Cuando el anticuerpo aglutinante (RF) está presente, estas partículas se agrupan y forman una masa macroscópica en la superficie de un portaobjeto de análisis. En la ausencia de RF, no ocurre aglutinación y la suspensión de látex permanece homogénea.

REACTIVOS

Reactivo A, Antígeno de látex **RFscan**, partículas del copolímero t-butilestireno viniltolueno cubiertas con IgG humana purificada y agregada térmicamente, en solución salina con tampón de glicina, con 0,01% de timerosal (conservante).

Reactivo B, Diluyente de muestras **RFscan**, solución salina con tampón de glicina, con 0,01% de timerosal (conservante).

Control + , Control positivo (con posibilidad de realizar concentraciones) **RFscan**, suero humano conteniendo factor reumatoideo en solución salina con tampón fosfato, con 0,01% de timerosal (conservante). Consulte la tarjeta de valores del ensayo para obtener la concentración e información de la unidad internacional (UI/mL).

Control - , Control negativo **RFscan**, suero humano diluido en solución salina con tampón fosfato, con 0,01% de timerosal (conservante).

Precauciones: Diagnóstico *in vitro*

Reactivos: No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad. Después de sacarlos del refrigerador, deje que alcancen la temperatura ambiente (entre 15 y 30° C) antes de usarlos. NO mezcle los reactivos de equipos que tengan números de lote diferentes.

El antígeno de látex **RFscan** puede requerir agitación vigorosa para volver a suspenderlo completamente. Mantenga el frasco bien cerrado cuando no esté en uso para prevenir la evaporación del medio de suspensión. La suspensión debe ser lechosa y homogénea. No use los reactivos si estos muestran signos de floculación.

Para asegurar la dispensación adecuada de las gotas, mantener los frascos dispensadores de reactivo en posición vertical, y dejar caer las gotas una por una.

Controles: No use el kit si los controles positivo y negativo no producen los resultados apropiados.

Los sueros de control se derivan de sangre humana que se analizó y resultó ser no reactiva según un método aprobado por la FDA (U.S. Food and Drug Administration) para detectar la presencia de anticuerpos al HIV (virus de inmunodeficiencia humana) y al HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B).

ADVERTENCIA: Debido a que ningún método de análisis puede ofrecer una garantía total de la ausencia del HIV, del virus de la hepatitis B, o de otros agentes infecciosos, LAS MUESTRAS Y ESTOS REACTIVOS DEBEN MANIPULARSE COMO SI FUERAN CAPACES DE TRANSMITIR UNA ENFERMEDAD INFECCIOSA. La U.S. Food and Drug Administration recomienda que dicho material sea manipulado a un nivel 2 de bioseguridad, al que se hace referencia en el manual de *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* de los U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH).

Tarjetas de análisis: Para permitir una reacción correcta, las tarjetas deben ser planas. En caso contrario, aplane la tarjeta curvándola hacia atrás en sentido opuesto al lado ondulado. Tenga cuidado de no tocar con los dedos las zonas de análisis, pues existe el peligro de dejar restos grasos que podrían alterar los resultados del mismo. Utilice cada tarjeta una sola vez y deséchela. Guarde las tarjetas en el envase original en un lugar seco y a temperatura ambiente.

Lectura de los resultados del análisis: Los resultados deben leerse inmediatamente bajo una luz incandescente de alta intensidad. Las lámparas fluorescentes son generalmente insuficientes para distinguir los casos de reacción débil. No se recomienda el uso de lupas para leer los resultados del análisis.

Almacenamiento de los reactivos: Refrigerados a una temperatura de entre 2 y 8° C. NO CONGELAR. Tape los reactivos nuevamente y colóquelos en el refrigerador cuando no los use.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras serológicas deben ser tomadas bajo condiciones asépticas. Permita que toda la sangre se coagule; entonces, centrifúguese para retirar la materia particulada del suero. Decante rápidamente. Las muestras pueden ser almacenadas en refrigeración por varios días o congeladas a -20° C para almacenamiento prolongado. No se recomienda el congelamiento y descongelamiento repetido del suero. El uso de muestras hemolizadas, notablemente lipémicas o contaminadas puede causar dificultad en la interpretación de los resultados de la prueba.

No se requiere ninguna preparación del paciente antes de la toma de la muestra.

PROCEDIMIENTOS

Vuelva a leer "Precauciones" y "Recogida y preparación de las muestras" antes de efectuar las pruebas. La zona en que se van a realizar las pruebas, los reactivos, las muestras y los componentes de la prueba deben encontrarse a temperatura ambiente (entre 20 y 25° C) en el momento de usarse.

Materiales suministrados:

	N° 265000 (40 pruebas)	N° 265001 (100 pruebas)
Reactivo A, RFscan, Antígeno con látex,	2,0 mL	5,5 mL
Reactivo B, RFscan, Diluyente de muestra,	14,0 mL	2 x 60,0 mL
Control +, RFscan, Control positivo (suero humano),	1,0 mL	1,5 mL
Control -, RFscan, Control negativo (suero humano),	1,0 mL	1,5 mL
Tarjetas de análisis,	8	8
Información de valores del ensayo,	1	1
Dispensstirs, gotero/esparcidor	50	100

Materiales no suministrados: Micropipeta con puntas desechables con capacidad de 50 y 100 µL (vea "Disponibilidad"), pipetas serológicas (1 ó 2 mL) o micropipeta de volumen variable (1000 µL), tubos de ensayo 12 x 75 mm y soporte para tubos.

También se necesitan los aparatos de laboratorio apropiados para la preparación, el almacenamiento y la manipulación de muestras serológicas.

Generalidades del procedimiento:

La prueba de látex **RFscan** puede ser utilizada tanto para la estimación cualitativa como cuantitativa del factor reumatoideo en sueros de pacientes. La prueba de selección utiliza suero no diluido del paciente. Si la aglutinación es evidente, prepare una dilución 1:20 de la muestra con el diluyente de muestras **RFscan** provisto con el equipo y repita la prueba. **Sólo aquellas muestras de pacientes que permanezcan positivas a una dilución 1:20 son consideradas positivas para el factor reumatoideo.** Estos sueros pueden ser analizados adicionalmente mediante el método de titulación en tarjeta descrito en "Cuantificación (método de titulación en tarjeta)".

REALIZACION DE LAS PRUEBAS**Examen (cualitativo):**

1. Rotule la tarjeta para identificar los controles y todas las muestras bajo prueba.
2. Coloque una gota del **Control +** y del **Control -** en el círculo de análisis asignado a cada uno.
3. Dispense una gota de suero en uno de los círculos vacíos en la tarjeta de análisis, utilizando un dispositivo **Dispensstirs** distinto para el suero de cada paciente.
4. Vuelva a suspender el **Reactivo A** agitándolo vigorosamente. Dispense una gota del **Reactivo A** en cada uno de los sueros (pacientes y controles) en la tarjeta. Mezcle cada círculo con suero con la punta plana del *correspondiente* dispositivo **Dispensstirs**; vierta el contenido uniformemente dentro del área completa del círculo de análisis. Evite contaminación entre áreas de pruebas en círculos adyacentes.
5. Mueva la tarjeta con un movimiento de rotación suave por 60 segundos, mientras observa cada área de prueba para detectar aglutinación. Para esto, incline la tarjeta de análisis de manera que el flujo de látex a través de cada área de prueba pueda ser visto fácilmente.

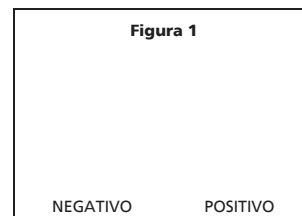
INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DEL ANALISIS

Análisis cualitativo: El control positivo debe manifestar aglutinación, mientras que el control negativo no debe evidenciar ninguna aglutinación (Figura 1).

NOTA: LAS MUESTRAS NO DILUIDAS QUE EXHIBAN AGLUTINACION DEBEN SER DILUIDAS 1:20 Y REEXAMINADAS. SOLO AQUELLAS MUESTRAS DE PACIENTES QUE PERMANEZCAN POSITIVAS A UNA DILUCION 1:20 SON CONSIDERADAS POSITIVAS PARA EL FACTOR REUMATOIDEO.

Cuantificación (Método de titulación en tarjeta): Siga los pasos 1 al 11 por cada uno de los sueros (o controles) en prueba. Use una pipeta o punta de pipeta distinta en cada paciente. Se recomienda el uso de la tarjeta de análisis grande con el método de titulación en tarjeta.

1. Rotule un tubo de ensayo por cada paciente (o control) a ser probado.
2. Dispense 1,9 mL del **Reactivo B** en cada tubo.
3. Dispense 100 µL de suero (o control) del paciente en el tubo correspondiente. Mezcle bien los contenidos. Cada tubo contiene ahora una dilución 1:20 del suero (o control) del paciente.
4. Extraiga con pipeta 50 µL del **Reactivo B** en los círculos de análisis del 2 al 6.
5. Extraiga con pipeta 50 µL de la dilución 1:20 del suero (o control) del paciente en el círculo de análisis 1.
6. Extraiga con pipeta 50 µL de la dilución 1:20 del suero (o control) del paciente en el círculo de análisis 2. Mezcle el contenido del círculo de análisis mediante varios ciclos de aspiración y descarga de la pipeta.
7. Utilizando la misma punta de pipeta, aspire 50 µL de la mezcla del círculo de análisis 2 y dispénelo en el círculo de análisis 3. Mezcle como antes y transfiera 50 µL de la mezcla en el círculo de análisis 4.
8. Continúe con el procedimiento de mezcla y transferencia hasta el círculo de análisis 6.
9. Descarte 50 µL del círculo de análisis 6.
10. Vuelva a suspender el **Reactivo A** agitándolo vigorosamente. Dispense una gota del **Reactivo A** en cada uno de los círculos. Mezcle y distribuya el contenido uniformemente dentro del círculo completo, utilizando la punta plana de un dispositivo **Dispensstirs** limpio.



Círculo N°	Dilución	Círculo N°	Dilución
1	1:20	4	1:160
2	1:40	5	1:320
3	1:80	6	1:640

11. Mueva la tarjeta con un movimiento de rotación suave por 60 segundos, mientras observa para detectar cualquier aglutinación, inclinando la tarjeta de análisis de manera que el flujo de látex a través de cada círculo pueda ser observado fácilmente. La concentración se determina mediante el último círculo que exhiba aglutinación.

Notas del procedimiento: La incubación prolongada por más de 1 minuto puede producir resultados positivos falsos debido a la evaporación de la mezcla de análisis en la tarjeta.

DETERMINACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados se obtienen mediante la observación de aglutinación en los círculos de análisis. La presencia de agregados macroscópicos de partículas de látex claramente visibles a medida que la tarjeta de análisis es inclinada hacia atrás y adelante constituye un resultado positivo. SOLO AQUELLAS MUESTRAS DE PACIENTES QUE PERMANEZCAN POSITIVAS A UNA DILUCION 1:20 SON CONSIDERADAS POSITIVAS PARA EL FACTOR REUMATOIDEO. Una mezcla lechosa y homogénea sin signos visibles de aglutinación constituye un resultado negativo. Si se observa aglutinación en suero no diluido pero no se observa en una dilución 1:20, también constituye un resultado negativo. Con el método de titulación en tarjeta, la concentración se determina a través de la dilución mayor que presente un resultado positivo.

El Control positivo **RFscan** puede ser hallado en la Preparación Internacional de Referencia de la OMS. Al utilizar el Control positivo **RFscan** como estándar secundario, los resultados se pueden expresar en UI/mL según la fórmula:

$$\text{Muestra UI/mL} = \frac{\text{Control positivo en UI/mL} \times \text{concentración de la muestra}}{\text{concentración del control}}$$

Para obtener información sobre la UI/mL del control positivo, consulte la Tarjeta de valores del ensayo adjunta.

Control de calidad: En cada equipo **RFscan**, se proporciona un control positivo y un control negativo. El control positivo debe mostrar aglutinación, mientras que el control negativo no debe mostrar aglutinación alguna. Si se utiliza el Método de titulación en tarjeta, el control positivo debe mostrar aglutinación a través del título indicado en la "Información de valores del ensayo".

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El significado clínico del resultado de cualquier análisis depende de su relación con otros datos médicos. El diagnóstico y tratamiento de enfermedades deben estar basados en la evaluación de toda la información relevante del paciente.

VALORES PREVISTOS

El factor reumatoideo está presente en los sueros de la mayoría de los pacientes con artritis reumatoidea clásica. Aunque un resultado positivo a la prueba RF es muy sugestivo de artritis reumatoidea, esto no es diagnóstico para esta condición, ya que el RF también aparece en un pequeño porcentaje de individuos sanos y en algunos pacientes con otras enfermedades.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

Se realizó una comparación de la prueba de látex **RFscan** con el procedimiento de aglutinación de RCB de oveja y con otro procedimiento de látex, ambos disponibles comercialmente. Para esto se emplearon pacientes con artritis reumatoidea diagnosticada clínicamente y pacientes con enfermedades autoinmunitarias o de los tejidos conectivos, incluyendo lupus eritematoso sistémico, osteoartritis, esclerosis sistémica, fibromiositis, vasculitis y polimialgia. De 121 resultados negativos obtenidos por medio del ensayo de aglutinación de látex **RFscan**, todos resultaron negativos utilizando uno de los mejores ensayos de aglutinación de látex comercial; una muestra presentó un resultado positivo dudoso (por ejemplo, la más baja concentración posible) con el procedimiento de hemaglutinación. Asimismo, de 25 resultados positivos con el ensayo **RFscan**, todos resultaron positivos tanto con el procedimiento de hemaglutinación como con otro procedimiento de aglutinación de látex.

DISPONIBILIDAD

Nº de Cat.	Descripción	Nº de Cat.	Descripción
265000	Equipo de 40 pruebas RFscan (Cualitativo).	273888	Micropipeta de Becton Dickinson , volumen fijo de 100 µL.
265001	Equipo de 100 pruebas RFscan (Cualitativo).	273310	Puntas de pipeta, caja de 1000.
273887	Micropipeta de Becton Dickinson , volumen fijo de 50 µL.	272905	Dispensstirs , 0,05 mL, caja de 500.

BIBLIOGRAFIA: Ver "Referencias" en el texto en inglés.

**BECTON
DICKINSON**

Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

MADE
IN
U.S.A.

