

RF-Waaler

PRESENTACION			
REF	2375005	RF-Waaler	50 Tests
	2375010	RF-Waaler	100 Tests
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>			

FR-Waaler

Determinación de factores reumatoideos

PRUEBA EN PORTA

FUNDAMENTO

El FR-Waaler Test es una prueba rápida de aglutinación en porta basada en una modificación de la técnica de Waaler-Rose¹⁻³, para la detección y semicuantificación de los factores reumatoideos (FR) en suero.

La determinación se efectúa ensayando una suspensión de hematíes estabilizados de oveja, sensibilizados con gamma globulina de conejo frente a los sueros problema. La presencia o ausencia de aglutinación visible es indicativa de la presencia o ausencia de FR en las muestras ensayadas a niveles significativos.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R **Reactivo FR-Waaler.** Suspensión estabilizada y tamponada de hematíes de oveja sensibilizados con fracción IgG de suero de conejo anti-hematíe de oveja. Contiene 0,95g/L de azida sódica.

CONTROL + Suero humano con una actividad aproximada equivalente a 25 UI/mL. Contiene 0,95 g/L de azida sódica.

CONTROL - Suero animal con una actividad inferior a 5 UI/mL. Contiene 0,95 g/L de azida sódica.

Precauciones: En la preparación de reactivos de origen humano, intervienen solamente materiales que, frente a técnicas probadas, han mostrado su negatividad frente a anticuerpos anti-HIV 1+2, anticuerpos anti-HCV y HBsAg. Tratarlos, no obstante, como si fueran potencialmente infecciosos.


Aviso: Los reactivos de este kit contienen azida sódica. Evitar el contacto con la piel y mucosas.

CONTENIDO DEL ENVASE

REF 2375005, kit 50 tests.
1 vial Reactivo RF-Waaler, 1x1 mL Control positivo, 1x1 mL Control negativo, 3 Tarjetas visualizadoras y 1x50 palillos desechables.

REF 2375010, kit 100 tests.
2 viales Reactivo RF-Waaler, 1x1 mL Control positivo, 1x1 mL Control negativo, 3 Tarjetas visualizadoras y 2x50 palillos desechables.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar a 2-8°C. No congelar los componentes del kit ya que podría verse afectada la funcionalidad del test.

El Reactivo y los Controles son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

El Reactivo y los Controles están listos para su uso.

MUESTRAS

Suero claro, reciente.

Una vez separado, el suero puede guardarse a 2-8°C durante una semana antes del ensayo, o por un período mayor a -20°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Pipetas de volumen variable.
- Solución salina (NaCl 0,9%, para técnica semi-cuantitativa).

TECNICA

I. Prueba cualitativa

1. Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente (Nota 1).
2. Resuspender el Reactivo con suavidad. Aspirar y vaciar varias veces el cuentagotas para asegurar su homogeneidad antes del ensayo.
3. Depositar 1 gota (50 µL) de suero problema en uno de los círculos de la tarjeta visualizadora. En círculos adicionales, depositar 1 gota de control positivo y 1 gota de control negativo.
4. Añadir a cada círculo 1 gota de Reactivo RF-Waaler, próxima a la muestra a analizar.
5. Efectuar la mezcla con ayuda de un palillo desechable, extendiéndola de forma que cubra por completo la superficie interior de cada anillo. Emplear palillos distintos para cada mezcla.
6. Dejar la tarjeta en reposo sobre una superficie plana durante **2 minutos**. Inmediatamente después de cumplirse el tiempo, inclinar una sola vez la tarjeta, *con mucho cuidado*, unos 30° de la horizontal y dejarla de nuevo en reposo durante 1 minuto adicional (Nota 2).
7. Observar de inmediato con la ayuda de una luz adecuada, la aparición de cualquier signo de aglutinación.

Lectura

Reacción negativa: Suspensión uniforme sin cambio visible alguno, tal como se presenta en el control negativo.

Reacción positiva: Aglutinación débil o intensa, fácilmente visible macroscópicamente.

II. Prueba semi-cuantitativa

1. Para cada muestra a analizar se utilizan 6 círculos de una tarjeta pipeteando 50 µL de solución salina (0,9%) en cada uno de ellos.
2. Pipetear sobre el diluyente del primer círculo 50 µL de muestra, y empleando la misma punta, mezclar mediante aspiraciones y expulsiones repetidas, transfiriendo 50 µL de la mezcla resultante sobre el diluyente del segundo círculo.
3. Continuar con la serie de dobles diluciones hasta el sexto círculo, desechando los 50 µL provenientes del mismo. Las diluciones finales obtenidas serán: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64.
4. Ensayar cada una de las diluciones tal como se describe en los pasos 4-7 de la Prueba cualitativa.

Lectura

Como en la Prueba cualitativa. El título de la muestra corresponde a la máxima dilución que presenta reactividad. La dilución siguiente debe ser negativa (Nota 3).

En el caso de resultar positiva la dilución más alta ensayada, repetir el ensayo comenzando con una dilución inicial al 1:16. Como diluyente de esta nueva serie de dobles diluciones se empleará control negativo diluido al 1:50 con solución salina, en vez de la solución salina empleada anteriormente.

La tasa aproximada (UI/mL) de FR presentes en la muestra puede obtenerse multiplicando la unidad mínima detectable (sensibilidad analítica) por el título de la última dilución positiva.

CONTROL DE CALIDAD

Incluir diariamente controles positivo y negativo para confirmar el correcto funcionamiento del reactivo, siguiendo los pasos descritos para la Prueba cualitativa.

El control positivo debe producir una clara aglutinación. Si no se obtiene el resultado esperado, no utilice el kit.

VALORES ESPERADOS^{4,5}

De aquellos pacientes con diagnóstico clínico de artritis reumatoide, aproximadamente el 70-80% son seropositivos para el factor reumatoide. Se demostró un resultado positivo para casi todos los pacientes con variantes de artritis reumatoide, tales como los síndromes de Felty ó Sjögren.

Puede esperarse un resultado positivo en menos del 5% de individuos sanos, mientras que en población adulta de 60 años y mayores pueden ser seropositivos un 30%, utilizando pruebas de aglutinación para la detección del factor reumatoide.

SIGNIFICADO CLINICO⁶⁻⁸

Los factores reumatoideos son un grupo de anticuerpos, mayoritariamente de la clase IgM, dirigidos contra determinantes de la porción Fc de la inmunoglobulina IgG del paciente. Aunque presentes en diversas enfermedades se hallan elevados principalmente en pacientes con artritis reumatoide.

En el diagnóstico clínico, los resultados de la determinación de los factores reumatoideos deben ser considerados siempre en relación a los hallazgos clínicos y otras pruebas de laboratorio.

CARACTERISTICAS FUNCIONALES

- La unidad mínima detectable (sensibilidad analítica) es de aproximadamente 8 UI/mL (6-16 UI/mL), frente a un Patrón de FR trazable al Material de Referencia de la OMS 64/1.
- La especificidad diagnóstica es del 93,6%
- Efecto prozona: No se observa hasta concentraciones de 600 UI/mL.
- Los resultados obtenidos con este reactivo no muestran diferencias significativas al ser comparados con un reactivo de referencia. Los datos analíticos del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Hemoglobina (<10 g/L), bilirrubina (<20 mg/dL) y lipemia (<10 g/L) no interfieren con el ensayo. Otras sustancias pueden interferir⁹.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Se han descrito reacciones positivas en condiciones clínicas distintas a la artritis reumatoide como la mononucleosis, hepatitis, sífilis, infecciones diversas y en personas de edad avanzada. La mayoría de estos casos, cuando se ensayan cuantitativamente, presentan títulos de FR muy bajos.
- Pueden darse reacciones negativas falsas tanto en la fase temprana como en la fase crónica sub-clínica de la enfermedad.

NOTAS

1. La sensibilidad del ensayo puede reducirse a temperaturas bajas. Los mejores resultados se obtienen trabajando entre 15 y 25°C.
2. Retrasos en las lecturas pueden ocasionar una sobrevaloración de la tasa de anticuerpos presentes.
3. Los títulos obtenidos con hematíes sensibilizados de oveja no son comparables con los títulos obtenidos mediante la prueba del látex. Las diferencias de títulos entre técnicas no reflejan diferencias en cuanto a la capacidad de ambas para detectar factores reumatoideos.

CAUSAS DE ERROR

- La contaminación bacteriana de controles y muestras, así como la congelación y descongelación del reactivo, son causas generales de resultados positivos falsos.
- Trazas residuales de detergentes en las tarjetas visualizadoras pueden ocasionar asimismo falsas positividads. Lavar las tarjetas bajo el grifo hasta que se hayan eliminado todos los residuos y enjuagarlas con agua destilada. Secar al aire, evitando el empleo de solventes orgánicos puesto que modifican el acabado especial de las placas.
- El reactivo FR-Waaler no debe utilizarse con posterioridad a su fecha de caducidad, puesto que un almacenamiento más prolongado puede afectar su sensibilidad.

REFERENCIAS

1. Rose, H.M., Ragan, C., Pearce, E. et al. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 68: 1 (1948).
2. Waaler, E. Acta Path. Microbiol. Scand. 17: 172 (1940).
3. Anderson, S.G., Bentzon, M.W., Houba, V. y Krag, P. Bull. Hlth. Org. 42: 311 (1970).
4. Christian, C.L. Rheumatoid Factors in: Laboratory Diagnostic Procedures in the Rheumatic Diseases. 2nd ed. Cohen AS (ed), Little, Brown and Company, Boston. p. 98 (1975).
5. Hughes, G.R.V. Connective Tissue Diseases. 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England (1979).
6. Ball, J. y Lawrence, J.S. Ann. Rheum. Dis. 22: 311 (1963).
7. Jones, W.L. y Wiggins, G.L. Amer. J. Clin. Path. 60: 603 (1973).
8. Waaler, M. y Toone, E.C. Arthritis Rheum. 4: 47 (1961).
9. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition. AACC Press (1995).

S2375-1/0312
RL.eas

