

Vaja: Pasivna aglutinacija – določanje prisotnosti revmatoidnega faktorja v serumskih vzorcih

Princip vaje:

Aglutinacija je zlepljanje delcev (antigenov), ki imajo na svoji površini antigenske determinante, s specifičnimi protitelesi. Ločimo direktno aglutinacijo, kjer pride do zlepljanja protiteles iz vzorca in antigenov, naravno prisotnih na površinah celic (eritrociti, levkociti idr.), in pasivno aglutinacijo, kjer so antigeni kemijsko vezani na eritrocite ali inertne delce (npr. lateks). Običajno se reakcije aglutinacije uporabljajo za določanje prisotnosti protiteles iz vzorca proti specifičnemu antigenu. Test je kvalitativen ali semi-kvantitativen, če pripravimo naraščajoče razredčine vzorca in dodamo lateksni reagent z znano občutljivostjo. Na vaji boste z lateksno aglutinacijo določili prisotnost revmatoidnega faktorja (RF) v vzorcih seruma in kontrol. Revmatoidni faktor so avtoprotitelesa (običajno IgM, lahko pa tudi ostali podrazredi protiteles), ki se vežejo na predel Fc IgG molekule. Morebitno prisotni RF v vzorcu seruma se vežejo s protitelesi IgG, predhodno adsorbiranimi na delce lateksa. Prisotnost ali odsotnost aglutinativov določimo s prostim očesom, primerjalno na pozitivno in negativno kontrolo.

Razdelitev dela:

Dva para študentov v skupini izvedeta test semi-kvantitativno, ostali pari kvalitativno.

Reagenti in pribor:

- RapiTex® RF (Siemens)
- N/T Rheumatology Control SL/1 (Siemens)
- N/T Rheumatology Control SL/2 (Siemens)
- plastične kapalke
- fiziološka raztopina
- 5 steklenih epruvet
- pipete

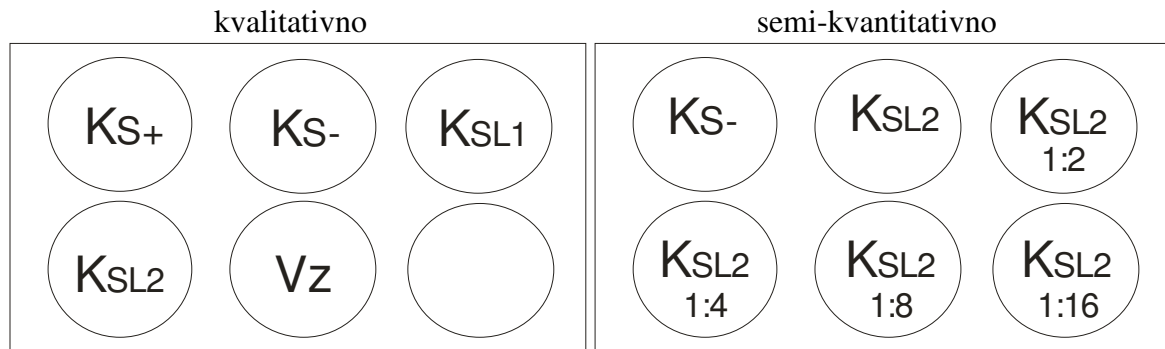
Izvedba vaje:

Kvalitativno:

1. Reagente in vzorce ogrej na sobno temperaturo (15-25 °C).
2. Rahlo premešaj reagente in serumske vzorce.
3. S pipeto oz. kapalko na steklenički reagenta nanesi 40 µL vzorcev oz. 1 kapljico kontrol in kontrolnih serumov na posamezna označena polja plastične kartice.
4. Dodaj 1 kapljico (cca 40 µL lateksnega reagenta RapiTex® poleg kapljic vzorcev oz. kontrol. S plastično kapalko rahlo zmešaj obe kapljici.
5. Ploščo zibaj z rokami natančno 2 minuti, nato preveri aglutinacijo na posameznih poljih.
6. Rezultat podaj kot prisotnost oz. odsotnost aglutinacije posameznega vzorca oz. kontrole.

Podana občutljivost kartičnega testa je približno 20 IU/mL.

Shema nanosa vzorcev:



Semi-kvantitativno: z redčitvami kontrole "N/T Rheumatology Control SL/2"

1. Reagente in vzorce ogrej na sobno temperaturo (15-25 °C).
2. Rahlo premešaj reagente in serumske vzorce.
3. V vsako izmed steklenih epruvet napipetiraj 0,1 mL fiziološke raztopine. V prvo nato dodaj 0,1 mL vzorca (KSL2), dobro premešaj, nato iz prve epruvete v drugo prenesi 0,1 mL raztopine. Dobljena raztopina v drugi epruveti predstavlja redčitev vzorca 1:2. Nato po istem postopku nadaljuj z redčenjem do redčitve 1:16.
4. S pipeto oz. kapalko na steklenički reagenta nanesi 40 μ L vzorcev oz. 1 kapljico kontrolnega seruma na posamezna označena polja plastične kartice.
5. Dodaj 1 kapljico (cca 40 μ L) lateksnega reagenta RapiTex[®] poleg kapljic vzorcev oz. kontrole. S plastično kapalko rahlo zmešaj obe kapljici.
6. Ploščo zibaj z rokami natančno 2 minuti, nato preveri aglutinacijo na posameznih poljih.
7. Rezultat podaj kot največjo razredčino vzorca, ki še izkazuje aglutinacijo in kot koncentracijo RF v IU/mL.

Podana občutljivost kartičnega testa je približno 20 IU/mL.

Poročilo vaje:

1. Podajte rezultate aglutinacijskega testa za vzorce in kontrole v zahtevanih enotah.
2. Komentirajte dobljene rezultate in morebitna odstopanja kontrole. Opredelite, kateri so možni vzroki za odstopanje.
3. Na kratko opišite dejavnike, ki vplivajo na aglutinacijo.