



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و  
میکروبیولوژی، آزمایشگاه میکروبیولوژی



# آزمایشگاه ایمونولوژی

جلسه هفتم:

تست RF (روماتوئید فاکتور)

# تست RF

تست RF برای تعیین وجود فاکتور های روماتوئیدی در بیمار روماتیسم مفصلی می باشد این بیماری در گروه بیماریهای خود ایمنی تقسیم بندی میگردد. یکی از مشخصه های آن این است که حدود ۸۰ درصد بیماران اتوانتی بادی هایی علیه ایمونوگلوبولینهای خودی تولید می کنند که به این اتوانتی بادی ها فاکتور روماتوئیدی گویند.

آرتریت روماتوئید یک بیماری التهابی مزمن است که می تواند مفاصل سینوویال را درگیر کند از جمله مفاصل کف دست، انگشت، مچ دست و... در این بیماری IgG های تولید شده توسط لنفوسیت های موجود در غشاهای سینوویال به عنوان آنتی ژن عمل می کنند.

به طور مثال در ماههای اولیه بیماری میزان آنتی بادی بسیار کم است و در سرم مشاهده نمی شود. یا در برخی بیماریها مانند بیماری آرتریت این فاکتورها وجود دارند که باعث تشخیص غلط بیماری می شوند. همچنین نگهداری نکردن درست تست و دادن حرارت زیاد هنگام انجام تست می تواند باعث ایجاد آگلوتیناسیون و جواب مثبت کاذب شود.

✓ آرتریت روماتوئید در واقع یک بیماری التهابی است که سبب درد ، تورم ، سفتی و محدودیت حرکت مفاصل می گردد . البته مشخصات خاصی دارد که آنرا با سایر انواع آرتریت ها ( التهاب مفاصل ) متمایز می کند . بعنوان مثال آرتریت روماتوئید بصورت قرینه تظاهر می کند یعنی اگر یک زانو یا دست درگیر باشد به احتمال زیاد طرف مقابل نیز درگیر است . بیماری عموماً مفاصل مچ و انگشتان دست را درگیر می کند . البته ممکن است سایر قسمت های بدن بجز مفاصل را نیز درگیر کند . ضمناً بیماران ممکن است از خستگی ، تب و ضعف رنج ببرند .

✓ بیماری معمولاً از یک بیمار به بیمار دیگر متفاوت است . در بعضی تنها بمدت چند ماه یا یکی دو سال طول می کشد و بدون آسیب و تخریب واضحی برطرف می شود . بعضی بیماران دیگر نوع خفیف تا متوسط بیماری را با دوره هایی از بدتر شدن علائم دارند و بعد در دوره هایی علائم برطرف می شوند در گروه دیگری نیز بیماری تقریباً همیشه فعال است و سالیان زیادی طول می کشد و منجر به تغییرات و ناتوانی های وسیعی در مفاصل می شود .

✓ اگر چه آرتریت روماتوئید تأثیرات قابل توجهی بر زندگی و سلامت شخص می گذارد، درمان های حال حاضر شامل تسکین درد و سایر داروها ، تناسب بین فعالیتها و استراحت و آموزش بیمار باعث می گردد تا اکثر بیماران در طول بیماری کاملاً فعال و سرزنده باشند .

- مراقبت از مفاصل : گاهی به نظر می رسد استفاده از آتل‌های خاصی که پزشک معرفی می کند برای کوتاه مدت می تواند تورم و درد مفاصل درگیر را کاهش دهد و منجر به استراحت آنها شود . این نوع آتل ها بیشتر در دست ها و مچها و گاهی برای قوزک پا استفاده می شود .
- کاهش فشارهای روحی : شواهد کافی دال بر اینکه استرسهای روحی نقش مهمی در ایجاد این بیماری دارند وجود ندارد ، لیکن وجود این استرسها همراه با بیماری روند بیماری را بدتر می نمایند . استرسهای روحی می توانند مقدار دردی را که توسط بیمار احساس می شود تشدید نماید . البته تکنیک های موفق برای رویارویی با این استرسهای روحی وجود دارد .
- رژیم غذایی سالم : تنها پرهیز از مواد غذایی پرچرب را می توان اشاره نمود که می تواند مفید باشد . البته بهتر است بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید از پزشک خود در مورد پرهیزهای غذایی خود دقیقاً سؤال نمایند . ضمناً بهتر است با رژیم غذایی مناسب و ورزش از چاقی جلوگیری شود .
- نوع آب و هوا : اگر چه شواهد کافی درست نیست که نشان دهد تغییرات آب و هوا می تواند چه مقدار در این بیماری مؤثر باشد ، بعضی از بیماران معتقدند آب و هوای مرطوب وضع بیماری آنها را بدتر می کند .
- درمانهای دارویی : داروهای مختلفی برای درمان آرتریت روماتوئید استفاده می شود که از مهمترین آنها می توان به آسپیرین و خانواده سالیسیلاتها ، ترکیبات طلا و داروهای سرکوب کننده ایمنی بدن اشاره نمود .

تاکنون علت واقعی بیماری ارتريت روماتوئيد شناخته نشده است ولي عوامل زيردر ايجاد بيماري ويا تشديد آن دخالت دارند:

۱- عوامل ويروسي : عوامل ويروسي از جمله ويروس EBV كه باعث تكثير پلي كلونال لنفوسيت هاي B مي گردد و در نتيجه احتمالا مولكول هاي IgG تغيير يافته ايجاد مي گردد.

۲- توليد IgG غير طبيعي : احتمالا نقص در گليكوزيلاسيون مولكول IgG باعث توليد IgG غير طبيعي و در نتيجه باعث تحريك سيستم ايمني بر عليه اين مولكول و سبب ايجاد فاكتر هاي روماتوئيدي مي گردد.

۳- عوامل ژنتيكي: افراي كه داراي آنتي ژن سازگار بافتي H2-AD4-D2H- DRH مي باشند بيشتر از كساني كه فاقد اين آنتي ژن ها هستند مسنعد اين بيماري اند.

۴- عوامل هورموني: اين بيماري به نسبت ۳ به ۱ در زنان بيشتر از مردان بخصوص در سنين ۳۵ الي ۴۵ سالگي بروز مي كند.

۵- عوامل آلرژيك، تغذيه اي و رواني نيز ممكن است در تشديد اين بيماري دخالت داشته باشند.

✓ بخش عمده تشخیص آرتریت روماتوئید متکی بر علائم بالینی بیمار است، اما آزمایشات نیز در جهت تایید و تحکیم تشخیص و نیز در ارزیابی شدت و سیر بیماری مفید هستند. یکی از شاخص های بسیار مفید بالینی برای آرتریت روماتوئید وجود فاکتور روماتوئید در سرم است. فاکتور روماتوئید اسمی است که برای توصیف آنتی‌بادیهای گوناگون یا کمپلکس ایمنی و یا هر دو که در آرتریت روماتوئید و تعداد دیگری از بیماریها تولید می‌شود بکار می‌رود.

✓ از آنجا که مقادیر بالای فاکتور روماتوئید ممکن است همراه با پاسخهای ایمنی حاد خاص مثل منونوکلئوز عفونی، برخی از بیماریها مانند سارکوئیدوز، لوپوس اریتماتوسیستمیک، و سندرم شوگرن دیده می‌شود و نیز ممکن است در درصد قابل ملاحظه‌ای از افراد مسن مشاهده گردد، تفسیر بالینی یک تست مثبت باید با احتیاط انجام شود.

✓ تفسیر تیتراهای بسیار بالا مشکل نیست. اما تیتراهای پایین ممکن است در اوایل شروع آرتریت روماتوئید و یا همراه با موارد ذکر شده فوق مشاهده گردد. با شیوع کمتر ممکن است در مواردی نظیر بیماریهای التهابی مزمن مانند اندوکاردیت باکتریال، سل، جذام و غیره تست RF مثبت مشاهده گردد.

✓ بررسیهای گوناگون نشان داده است که تست سرولوژیک برای فاکتور روماتوئید در ۹۰٪ بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید مثبت است در حالی که این تست در گروه کنترل کمتر از ۵٪ موارد مثبت بوده است.

## تشخیص بیماری:

- ✓ در ابتدا باید متذکر شد که تحقیقات نشان دهنده این واقعیت است که بیمارانی که بطور دقیق از بیماری خود آگاه شده اند و بطور فعال در روند درمانی خود شرکت نموده اند درد کمتری را تجربه نموده اند.
- ✓ بطور کلی تشخیص آرتريت روماتوئيد در مراحل ابتدایی بیماری بدلائيل مختلف مشکل می باشد . اول اینکه تست منفردی برای تشخیص بیماری وجود ندارد . ثانیاً علائم از یک شخص به شخص دیگر متفاوت است و علائم مشترک با سایر بیماریهای التهابی مفصلی زیاد است . در نهایت اینکه بسیاری از علائم به مرور زمان ایجاد می شوند و در مراحل ابتدایی بیماری وجود ندارند.
- ✓ به همین علت دقت زیادی از طرف پزشک معالج و راههای تشخیصی فراوانی امتحان می شوند تا بیماری تشخیص داده شود . علاوه بر شرح حال کامل و معاینه دقیقی که توسط پزشک انجام می شود آزمایشات مختلف و عکسبرداری های متفاوتی انجام می شود . عکسبرداری از مفاصل مختلف بیشتر زمانی انجام می شود که می خواهیم میزان تخریب مفصل را مشخص کنیم و در مراحل اولیه بیماری چندان کمک کننده نیست



## ✓ فاکتور روماتوئیدی یا RF چیست؟

✓ فاکتور روماتوئیدی اتو آنتی بادی‌هایی از جنس ایمونوگلوبولین نوع IgM هستند که در سیستم ایمنی خود فرد ایجاد می‌شوند. این آنتی بادی‌ها در حالت طبیعی برای دفاع بدنی در مقابل عفونت‌ها بوده ولی در بیماری‌های التهابی هم چون آرتрит روماتوئید یا همان روماتیسم دردهای مفصلی را ایجاد می‌کنند. این اتو آنتی بادی‌ها با حمله اشتباه به بافت‌های طبیعی بدن زمینه ساز دردهای مفصلی می‌گردند.

✓ برای بررسی حضور چنین آنتی بادی‌هایی در بدن فرد که به عنوان بهترین معیار شاخص ارزیابی عملکرد سیستم ایمنی بدن فرد می‌باشد این آزمایش انجام می‌گیرد.

✓ علائم ظاهری بدن نمی‌توانند معیار درستی برای تشخیص این فاکتور روماتوئیدی در بدن باشند. از طرفی علائم دردهای مفصلی همیشه برای تشخیص بیماری روماتیسم قابل اطمینان نیستند. چون افراد دارای این فاکتور روماتوئیدی ممکن است به بیماری‌های دیگر بافت همبندی مانند بیماری رینود، اسکلرودرما، اختلالات خود ایمن تیروئیدی، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، سندرم شوگرن، و یا افراد مبتلا به سایر بیماری‌های عفونی مزمن مانند هیپاتیت ویروسی مبتلا باشند.

## چه زمانی انجام آزمایش فاکتور روماتوئیدی توصیه می‌شود؟

- ✓ آزمایش فاکتور روماتوئیدی ممکن زمانی انجام شود که فرد علائم و نشانه‌های بیماری آرتریت روماتوئید را داشته باشد. این علائم ممکن است شامل موارد زیر باشد:
- ✓ درد، گرمی، تورم و گرفتگی صبحگاهی در مفاصل
- ✓ لمس نودل‌ها یا گره‌های زیر پوستی
- ✓ در صورت پیشرفت این بیماری هم‌زمان با انجام آزمایش RF، آزمایشات دیگری مانند تصویربرداری اشعه X برای بررسی کپسول‌های مفصلی متورم و از دست دادن بافت غضروفی و استخوانی تجویز می‌گردد.
- ✓ آزمایش RF ممکن است بعد از منفی بودن آزمایش اول و ادامه داشتن علائم، بار دیگر تکرار شود.

✓ آزمایش تشخیص: Rf

✓ ۱ : Rose- waaler test قبلا متداول بوده است.

✓ ۲ : test RA-latex در حال حاضر متداول است.

✓ اساس آزمایش :::

✓ سوسپانسیون لاتکس RF یک سوسپانسیون متشکل از ذرات لاتکس (پلی استیرن) یکنواخت متصل به گاماگلوبولین انسانی است.

ذرات لاتکس واکنش آنتی ژن - آنتی بادی را قابل رویت می سازند. اگر واکنش به علت حضور فاکتور روماتوئید در سرم ایجاد شود

ظاهر یکنواخت سوسپانسیون لاتکس تغییر کرده و آگلوتیناسیون هایی واضح ظاهر می گردد. این تغییرات به علت واکنش فاکتور

روماتوئید موجود در سرم با IgG سطح ذرات لاتکس است.

✓ آزمایش رز- والر RBC : گوسفند به عنوان یک ذره نا محلول که با IgG ضد آن حساس شده است و فاکتور روماتوئیدی در سرم

که با واکنش هماگلوتیناسیون تشکیل می دهند.

✓ آزمایش RA لاتکس :

✓ آنتی ژن IgG : انسانی متصل به ذرات لاتکس از ناحیه Fab

✓ آنتی بادی: فاکتور روما توئیدی Rf از جنس IgM و به FcIgG فوق

✓ آنتی ژن مورد استفاده:

✓ معرف – RA Latex در این آزمون سرم بیمار را با ذرات پلی استیرن

لاتکس پوشیده از IgG انسان مجاور می کنند.

✓ در صورت وجود IgM-RF ذرات لاتکس-گلوبولین تجمع یافته و

آگلوتیناسیون مشاهده می شود.

✓ معرفها و کنترلها

✓ ۱ - سوسپانسیون لاتکس RF: سوسپانسیون ذرات لاتکس (پلی استیرن)

متصل به IgG انسانی در بافر حاوی ۱/۰ درصد سدیم آزاید.

✓ ۲ - کنترل مثبت: سرم انسانی رقیق شده حاوی مقادیر بیش از ۲۰

IU/ml فاکتور روماتوئید، حاوی ۱/۰ درصد سدیم آزاید.

✓ ۳ - کنترل منفی: سرم انسانی رقیق شده حاوی مقادیر کمتر از ۱ U/ml

تهیه کننده: سهیلا عباسی

فاکتور روماتوئید، حاوی ۱/۰ درصد سدیم آزاید.



تهیه کننده: سهیلا عباسی

نوع آزمایش: کیفی

مراحل انجام آزمایش:

- ۱- با قطره چکان، یک قطره سرم بیمار را در سطح یکی از خانه‌های اسلاید قرار دهید.
  - ۲- یک قطره از کنترل مثبت را در سطح یکی دیگر از خانه‌های اسلاید قرار دهید.
  - ۳- یک قطره از کنترل منفی را در سطح دیگر از خانه‌های اسلاید قرار دهید.
  - ۴- یک قطره سوسپانسیون لاتکس RF را در مجاورت قطرات فوق بچکانید.
- تذکر: از مصرف بیش از اندازه سوسپانسیون لاتکس جدا خودداری شود.
- ۵- دو قطره مجاور را به کمک همزن پلاستیکی با هم مخلوط کرده و در سطح اسلاید پخش نمایید.
  - ۶- اسلاید را به کمک دست به مدت ۲ دقیقه حرکت دهید.

-نتایج را با توجه به آگلوتیناسیون یا عدم آن به صورت زیر مشاهده نمایید.

-ذرات آگلوتینه درشت با پس زمینه شفاف (+۳)

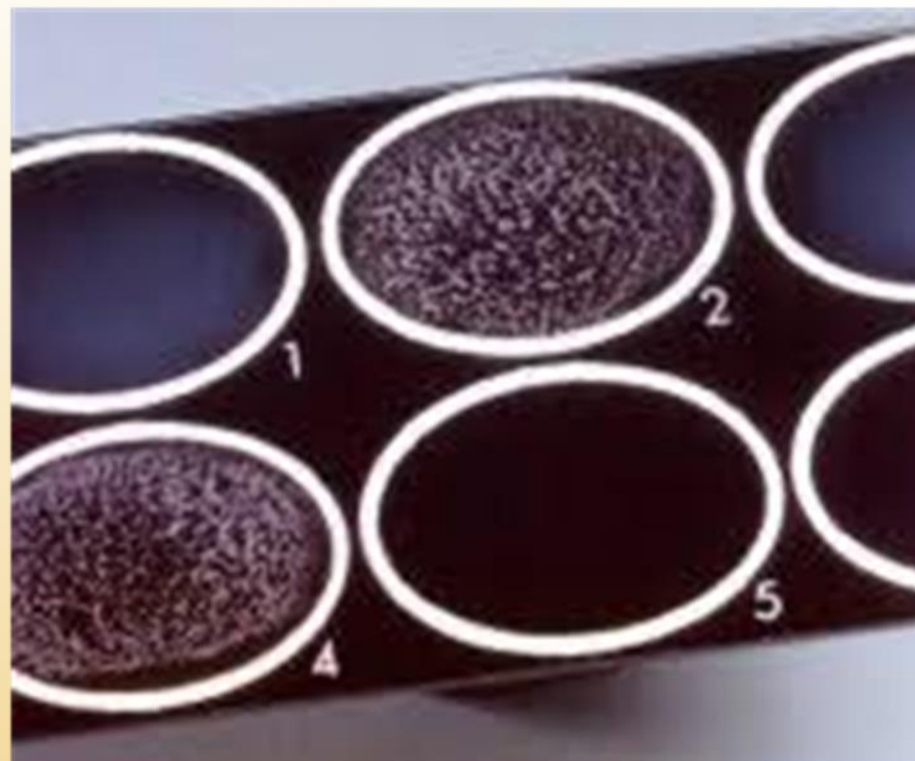
-ذرات آگلوتینه متوسط با پس زمینه نیمه کدر (+۲)

-ذرات آگلوتینه کوچک با پس زمینه کدر (+۱)

-سوسپانسیون یکنواخت و عدم وجود آگلوتیناسیون منفی

نتایج باید ۲ دقیقه پس از شروع واکنش خوانده شود. خواندن نتایج پس از این مدت ممکن است صحیح نباشد. احتمال

مشاهده پدیده پروزون در تیتراهای خیلی بالا وجود دارد





## احتیاط

✓ کنترلها و معرفهای موجود در این کیت حاوی سدیم آزاید است. سدیم آزاید در سیستم فاضلاب آزمایشگاه تولید آزاید سرب یا مس می‌نماید که می‌تواند باعث انفجار گردد. باقیمانده مواد آزمایش شده حاوی سدیم آزاید را با ریختن آب فراوان در فاضلاب بشوئید.

✓ قطره چکان باید عمود بر سطح اسلاید نگهداشته شده و اجازه داده شود تا یک قطره آزاد بر سطح اسلاید بچکد.

مواد و وسایل لازم:

✓ سوسپانسیون لاتکس -RF اسلاید - سرم بیمار - کنترل مثبت - کنترل منفی - همزن پلاستیکی



تهیه کننده: سهیلا عباسی

✓ این آزمایش به دو روش اسلایدی و لوله ای انجام می شود که به ترتیب روش های کیفی و کمی نامیده می شوند. در روش لوله ای میزان تیترا آنتی بادی فاکتور روماتوئیدی بیان می شود و در روش اسلایدی جواب به صورت کیفی فقط بیان می شود. به طور کلی روش اسلایدی بهتر می باشد ولی در صورتی که تیترا آنتی بادی در خون کم باشد ( کمتر از ۱:۲۰ ) روش اسلایدی مناسب نیست و باید به روش لوله ای انجام شود.

✓ اگر تیترا آنتی بادی فرد بین ۱:۲۰ و ۱:۴۰ باشد فرد مشکوک به روماتوئید است و در صورتی که میزان آن بالای ۱:۸۰ باشد جواب مثبت گزارش می شود و فرد به آرتریت روماتوئید مبتلا می باشد.

✓ در برخی موارد ممکن است که جواب تست به طور کاذب مثبت یا منفی شود. یعنی فرد مبتلا باشد و به طور کاذب جواب تست منفی شود یا فرد مبتلا نباشد و به طور کاذب جواب تست مثبت شود.

## موارد مثبت و منفی کاذب:

- ✓ - وجود فاکتورهای روماتوئیدی نهفته و یا فاکتورهای روماتوئیدی غیر آگلوتیناسیون از کلاس هایی غیر از IgM پنتامر
- ✓ - در ماه های اولیه بیماری ممکن است فاکتور روماتوئیدی در سرم مشاهده نشود ولی در مایع مفصلی ملتهب این فاکتور موجود می باشد.
- ✓ - حرارت دادن ناقص سرم جهت غیر فعال کردن کمپلمان ( باقی ماندن C1q در سرم و آگلوتیناسیون کاذب ذرات لاتکس
- ✓ - انعقاد ناقص خون بیمار و باقی ماندن فیبرینوژن در سرم که میتواند موجب آگلوتیناسیون کاذب ذرات لاتکس گردد.
- ✓ - اگر PH بافر و آنتی ژن کمتر از ۲/۸ شود ( در صورت نگهداری غلط) به علت چسبندگی گاماگلوبولینها به یکدیگر ، آگلوتیناسیون بروز می نماید.
- ✓ - وجود بیماری هایی به جز ارتريت روماتوئید که در آن ها فاکتورهای روماتوئیدی مثبت می شود.

## دلایل افزایش

عفونت مزمن ویروسی، هپاتیت فعال مزمن، سیفیلیس، سیروز صفراوی، توبرکولوز، لوسمی، منونوکلئوز عفونی و تعدادی از بیماری‌های خود ایمنی مانند اسکرودرما، سندرم شوگرن

عوامل مداخله گر:

همولیز یا لیپمی می تواند با نتیجه مثبت کاذب همراه باشد. بیماران مسن اغلب دارای نتایج مثبت کاذب هستند.

## تفسیر نتایج حاصل از آزمایش RF

- ✓ نتایج این آزمایش اغلب به صورت یک تیتر گزارش می‌شود. در روش تیتر، نسبت کمتر از ۱:۸۰ یا کمتر از ۶۰ واحد RF در هر میلی‌لیتر خون به عنوان طبیعی یا نرمال گزارش می‌شود. آزمایش RF باید همراه با نتایج سایر آزمایشات و بررسی علائم بالینی تفسیر گردد.
- ✓ فاکتور روماتوئیدی در ۷۰ تا ۹۰ درصد بیماران روماتیسمی وجود دارد هر چند اگر در برخی تشخیص داده نشود. در افرادی که علائم و نشانه‌های شدیدی از روماتیسم را تجربه می‌کنند، غلظت های قابل توجهی از RF را می‌توان در نمونه‌های آزمایشگاهی آنان دید که احتمال وجود روماتیسم را در آنان تقویت می‌کند. سطوح بالاتر فاکتور روماتوئیدی با شدت بیماری رابطه مستقیم دارد.
- ✓ نتیجه منفی آزمایش RF وجود آرتریت روماتوئید را رد نمی‌کند. حدود ۲۰ درصد از افراد مبتلا به روماتیسم دارای سطوح بسیار پایین‌تر از حد تشخیص RF را دارند. در این چنین مواردی آزمایش CRP ممکن است مثبت باشد و برای تأیید آرتریت روماتوئید مورد استفاده قرار می‌گیرد.
- ✓ مطالعات متعدد نشان می‌دهند که در بیماران تحت درمان با برخی عوامل تغییر دهنده بیماری می‌توانند سطح مقادیر RF را در خون کاهش دهند. سایر آزمایشات مانند ESR یا همان سرعت رسوب گلبول‌های قرمز و آزمایش CRP پروتئین واکنش دهنده C می‌توانند برای نظارت دقیق‌تر بر روی بیماری موثر واقع شوند.
- ✓ برخی از مشکلات سلامتی باعث بالا بردن سطح RF می‌شوند ولی نمی‌توان برای تشخیص آنها تنها به این پروتئین در خون اکتفا کرد.

## تفسیر آزمایش RF و RA

RA یک بیماری التهابی مزمن است که می تواند مفاصل سینوویال را درگیر کند از جمله مفاصل کف دست، انگشت، مچ دست و... در این بیماری IgG های تولید شده توسط لنفوسیت های موجود در غشاهای سینوویال به عنوان آنتی ژن عمل می کنند. سایر آنتی بادی های IgG و IgM سرم بیمار با IgG اسینوویال غیر طبیعی آنتی ژنیک واکنش نشان می دهند تا کمپلکس های ایمنی را تشکیل دهند. این کمپلکس های ایمنی، سیستم کمپلمان و سایر سیستم های التهابی را فعال می کنند و موجب آسیب مفصلی می شوند. حدود ۸۰ درصد مبتلایان به RA تیترا RF مثبت دارند. گرچه مقدار طبیعی این آزمایش منفی است اما تعداد کمی از افراد طبیعی نیز RF را در تیتراهای پایین دارا می باشند.



درمان : معمولاً پزشکان از چند راه مختلف برای درمان بیماری استفاده می کنند که این درمانها در سیر بیماری و وضعیت فردی بیمار ممکن است متفاوت باشد . اهداف کلیه اقدامات درمانی عبارتند از : کاهش درد ، کاهش التهاب ، توقف یا کند کردن روند تخریب و افزایش قابلیت‌های زندگی فرد .

✓ در حال حاضر اقدامات درمانی به شکل زیر صورت می گیرد : تغییر روند زندگی ، درمان دارویی ، جراحی و پیگیریهای دقیق بیماری .

در تغییر روند زندگی فرد مباحث زیر مطرح می گردد:

✓ استراحت و ورزش که هر دو با اهمیت هستند . در واقع بیماران نیاز به تناسب خوبی بین استراحت و ورزش خود دارند و در واقع زمانیکه بیماری فعال است استراحت بیشتر و هنگامی که غیرفعال است ورزش بیشتر مطلوب است . استراحت و مدت زمان مورد نیاز برای آن از فردی به فرد دیگر متفاوت است . ورزش باعث افزایش قوای عضلانی و دامنه حرکات مفاصل می گردد و ارتجاع مفاصل را تسهیل می نماید . ضمناً باعث خواب راحت ، کاهش درد و کاهش وزن می شود . به هر حال ورزش باید در برنامه های زندگی بیمار بر اساس تواناییهای شخصی اش گنجانده شود .

A close-up photograph of pink flower petals, with a single water droplet resting on one of them. The background is dark and out of focus.

بِاِثْتِكْرٍ اِزْ حَسَنِ  
تَوْجِهٍ شَمَا