

# Rheumatoid Factor (RF) Kit for use on SPAPLUS®

For *in-vitro* diagnostic use

Product code: LK151.S

Manufactured in the UK  
The Binding Site Group Ltd, 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, U.K.  
www.bindingsite.co.uk  
Telephone : +44 (0)121 456 9500  
Fax : +44 (0)121 456 9749  
E-mail: info@bindingsite.co.uk

In Europe and the USA, SPAPLUS® is a registered trademark of The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK.



## 1 INTENDED USE

A Rheumatoid Factor (RF) test system is a device intended for the quantitative *in vitro* determination of rheumatoid factor concentration in serum. This product is suitable for use on the SPAPLUS analyser.

## 2 SUMMARY AND EXPLANATION

This test system is intended to be used as an aid in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA). The agglutination reaction between antibody coated red blood cells and RA sera was first demonstrated by Waaler and Rose in 1940. The reaction has since been shown to be caused by certain factors in the RA sera. These rheumatoid factors are a heterogeneous group of high molecular weight auto-antibodies directed against the body's own immunoglobulins. They are produced by plasma cells present at sites of tissue injury. The initiating antigen is thought to be one or more viruses or viral antigens that persist in the joint tissues. Research has shown that both environmental and genetic factors can affect the production of rheumatoid factors with various biological properties. Rheumatoid factors have also been observed in the serum of patients with lupus erythematosus, hepatitis, liver cirrhosis, syphilis and various other conditions but the RF titre is much lower than in RA. Between 60 and 80% of patients with active RA possess this abnormal protein in their blood and joint fluid, and its detection is therefore of value in the diagnosis and monitoring of the disease.<sup>2</sup>

## 3 PRINCIPLE

Rheumatoid factors are antibodies directed against the Fc portion of IgG. The majority of rheumatoid factors are IgM antibodies, but may be IgG or IgA. Conditions giving rise to such factors include rheumatic conditions and chronic inflammatory processes. The RF latex reagent is a suspension of polystyrene latex particles of uniform size coated with human IgG. When serum containing rheumatoid factor is mixed with the RF latex reagent an increase in turbidity can be measured at 570nm. By constructing a standard curve from the absorbance of standards, the rheumatoid factor concentration can be determined<sup>1</sup>.

## 4 REAGENTS

- R1. RF Reaction Buffer** Containing Glycine buffer pH 8.3, Sodium Chloride, Sodium ethylenediamine tetra acetic acid disodium salt dihydrate, Bovine serum albumin, Sodium Azide 0.09% w/v.
- R2. RF Reagent** Containing Glycine Buffer pH 7.3, Sodium Chloride, Latex particle adsorbed human IgG, Sodium Azide 0.09% w/v.
- RF Controls** Supplied at 2 levels, Low and High. Target values and ranges are supplied in the Quality Control certificate. Supplied ready for use.
- RF Calibrator 1-5** Calibration has been carried out and values have been assigned using an immunoturbidimetric method standardised to the International Reference Preparation, WHO Standard 64/2. Supplied ready for use.

## 5 CAUTION

For *in vitro* diagnostic use only. Do not pipette by mouth. Exercise the normal precautions required for handling laboratory reagents. All reagents contain sodium azide. Avoid ingestion or contact with skin or mucous membranes. In case of skin contact, flush affected area with copious amounts of water. In case of contact with eyes or if ingested, seek immediate medical attention. Sodium azide reacts with lead and copper plumbing, to form potentially explosive azides. When disposing of such reagents flush with large volumes of water to prevent azide build up. Exposed metal surfaces should be cleaned with 10% sodium hydroxide. Each human-based component in the kit has been found negative for the presence of HIV antibodies and hepatitis B surface antigen by FDA cleared methods. However, as no method can offer complete assurance, these reagents should be handled as if capable of transmitting infection. Health and Safety Data Sheets are available on request. Please dispose of all biological and chemical materials according to local guidelines. **The reagents must be used only for the purpose intended by suitably qualified laboratory personnel, under appropriate laboratory conditions.**

## 6 STORAGE AND STABILITY

- R1. RF Reaction Buffer**  
Supplied ready for use. Stable up to expiry date when stored at 2-8°C. The *RF Reaction Buffer* may be stored, uncapped, on the analyser for up to 35 days, provided that the main power switch (located at the rear of the left hand panel) is left switched on.
- R2. RF Reagent**  
Supplied ready for use. Stable up to expiry date when stored at 2-8°C. Invert several times before use, avoiding the formation of foam. The *RF Reagent* may be stored, uncapped, on the analyser for up to 35 days, provided that the main power switch (located at the rear of the left hand panel) is left switched on.
- RF Controls**  
OPENED: Store refrigerated (2-8°C). Protein control material is stable for 30 days at 2-8°C if kept capped in original container and free from contamination. Only the required amount of product should be removed. After use, any residual product should NOT BE RETURNED to the original vial.  
UNOPENED: Store refrigerated (2-8°C). Stable to expiration date printed on individual vials.

## RF Calibrator 1-5

OPENED: Calibrator material is stable for 28 days at 2-8°C if kept capped in original container and free from contamination. Only the required amount of product should be removed. After use, any residual product should NOT BE RETURNED to the original vial.  
UNOPENED: The RF Calibrators are supplied ready for use and are stable up to the expiry date when capped and stored at 2-8°C in the absence of contamination.

## 7 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Fresh serum is recommended. The serum may be stored at 15-25°C for 24 hours or at 2-8°C for 3 days after collection. If the test cannot be carried out within this period of time, the serum should be frozen once at -15°C to -20°C for 4 weeks. Lipaemic or haemolytic samples and high levels of detergents may interfere in this assay.

## 8 METHODOLOGY

### 8.1 Materials provided

- 1 x 100 tests *RF Reagent SPAPLUS*.
- 1 x 100 tests *RF Reaction Buffer SPAPLUS*.
- 1 x *RF SPAPLUS Calibrator 1-5* (5 x 1.0mL calibrator set for RF).
- 1 x 1.0mL *RF SPAPLUS Low Control*.
- 1 x 1.0mL *RF SPAPLUS High Control*.

### 8.2 Materials required but not provided

- Equipment for collection and preparation of test samples e.g. sample tubes, centrifuge etc.
- A fully operational and equipped SPAPLUS analyser.
- Current analyser operating instructions: SPAPLUS Reference Guide, Insert Code FIN012.
- Sample Diluent (99: Dil 1) Product Code: SN080.S.

### 8.3 Reagent preparation

Before loading, gently mix by inversion ensuring no foam or bubbles are generated or remain on the surface as these may interfere with reagent aspiration.

### 8.4 Test procedure

The user should be familiar with the operation of the SPAPLUS analyser before attempting to carry out the test procedures. The analyser should be prepared for use according to the manufacturer's instructions and the assay protocol entered as described below.

For full details of analyser operation refer to the SPAPLUS Reference Guide (FIN012) supplied with the analyser.

### 8.4.1 Test parameters

Assay parameters are entered into item number 46

Item Name 46 RF		DATA INFORMATION		CALIBRATION	
Units	IU/mL	Type	Logit 2	Auto Fill	
Decimals	2	Standard			
ANALYSIS		1 #	4 #		
Type	End	2 #	5 #		
		3 #	6 #		
Main W.Length 1	570	NORM. RANGE			
Sub W.Length		MALE		FEMALE	
Method		LOW	HIGH	LOW	HIGH
CORR.		Serum	[ ]	[ ]	[ ]
Y =	1 X + 0	Urine	[ ]	[ ]	[ ]
		Plasma	[ ]	[ ]	[ ]
		CSF	[ ]	[ ]	[ ]
		Dialysis	[ ]	[ ]	[ ]
		Other	[ ]	[ ]	[ ]
Page : 1	Print	Hard Copy	Next Page	Save	Return

Item Name 46 RF		DATA PROCESS		ASPIRATION	
READ		START END		ABSORBANCE LIMIT	
KIND	Single	MAIN	45 46	LOW	-3
VOLUME	5	SUB	33 34	HIGH	2
SAMPLE REAGENT1 VOL	150	FACTOR			
REAGENT2 VOL	50	Blank correction	*	Reaction	OFF
		ENDPOINT LIMIT	2	CHECK POINT	
		LINEAR CHECK (%)	0	LOW	-3
				HIGH	3
Third mix	OFF	DILUTION			
Blank	Water - Blank	Diluent	99: Dil 1	100: Dil 2	
		Pre Dilution Rate			
		Auto Rerun Dilution Rate High	10		
		Auto Rerun Dilution Rate Low			
MONITOR		PROZONE CHECK			
LEVEL SPAN 1	3	START	END	LIMIT (%)	Min dOD [ 0 ]
		FIRST	[ ]	[ ]	
		SECOND	[ ]	[ ]	Low High
		THIRD	[ ]	[ ]	Low High
Page : 2	Print	Prev Page	Next Page	Save	Return

\*Automatically calculated

Item Name 46 RF		Auto Rerun SW		Auto Rerun Condition (Absorbance)	
Auto Rerun Range (Result)		Lower		Higher	
Serum #		On		Off	
Urine #		Off		On	
Plasma #		On		Off	
CSF #		Off		On	
Dialysis #		On		Off	
Other #		Off		On	
Bottle Size (ml)		Prozone Range		On	
24 Items	36 Items				
Reagent1 60	Reagent 1 0				
Reagent2 R1 16.0	Reagent2 R1 0				
Reagent2 R2 6.0	Reagent2 R2 0				
Page : 3	Print	Prev Page	Next Page	Save	Return

Item Name 46 RF						
<b>Out-of-Range Table</b>						
	NEAT		Pre Dilution		Auto-rerun Dilution(*10)	
	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW
	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#
Page : 4			Prev Page	Save	Return	

N.B. The calibrator (Standard #) values are found in the Quality Control certificate (SIN282.QC). Calibrator values on Page 1 should be entered in ascending order, i.e. the lowest value first. IMPORTANT: the analyser will only update the calibrator values providing the **Auto Fill** button is pressed after typing the value for calibrator 5 on Page: 1. The assay utilises an extrapolated calibration curve therefore the Auto Rerun Range (Result) (Page 3) and Out-of-Range (Page 4) tables must be manually updated using values supplied in the Quality Control certificate (SIN282.QC).

#### 8.4.2 Control volumes

Transfer 150µL of control fluid into a sample cup and place onto the rack.

#### 8.5 Measuring range

The range of this assay is approximately 7 to 104 IU/mL. In the event of a rerun, the upper limit of the assay range is increased to 1040 IU/mL. These values are dependent on the lot specific value of the calibrator in use.

SPAPLUS analyser dilution	Approximate measuring range (IU/mL)
1/1	7 – 104
1/10	70 – 1040

### 9 QUALITY CONTROL

The controls provided should be included in all assay runs. The RF concentration is stated on the accompanying Quality Control certificate (SIN282.QC). Sample results obtained should only be accepted if the control results are within ±20% of the concentration(s) stated.

### 10 LIMITATIONS

- 10.1 These kits are not suitable for the measurement of samples containing circulating immune complexes (CICs) or for lipaemic or haemolysed samples due to the unpredictable degree of non-specific scatter these sample types may generate. Unexpected results should be confirmed using an alternative assay method.
- 10.2 Customers are strongly advised to run all controls with every batch of samples being assayed. Should a control value be out of range against a stored curve, it is recommended that the control is re-assayed using the same calibration curve. If the control value is still out of range the curve should be recalibrated and the controls re-assayed. If control values are out of range against the new calibration curve check the instrument and parameters entered before repeating the assay. If problems persist, refer to the supplier.
- 10.3 Diagnosis cannot be made and treatment must not be initiated on the basis of RF measurements alone. Clinical history and other laboratory findings must also be taken into account.

### 11 EXPECTED VALUES

The cut off value which constitutes the upper limit of normal is subject to dispute. However, values less than 10 IU/mL are considered to be within the normal range. The World Health Organisation has suggested a level approaching 12.5 IU/mL as being the upper limit of normal.<sup>1</sup> It is recommended that each laboratory should establish an expected range to reflect the geographical location and the age, sex and diet of the population.

### 12 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following performance data was obtained using a SPAPLUS analyser.

#### 12.1 Precision

RF precision summary						
	n	Mean (IU/ml)	Intra assay		Total precision	
			SD	CV %	SD	CV %
Serum 1	80	15.28	0.58	3.8%	0.90	5.9%
Serum 2	80	43.77	1.36	3.1%	1.69	3.9%
Serum 3	80	76.7	1.87	2.4%	2.04	2.7%

#### 12.2 Comparison

This method (Y) was compared with another commercially available method (X) and the following Passing & Bablok equation obtained:

$$y = 0.98x - 0.39$$

and a correlation coefficient of  $r = 0.996$

68 patient samples were analysed spanning the range 7.2 to 99.5 IU/mL.

#### 12.3 Analytical sensitivity

The limit of Quantitation (LoQ), the limit of Detection (LoD) and the limit of Blank (LoB) were determined consistent with CLSI guidelines EP17-A2. LoQ is the smallest concentration that can be detected reliably. LoD is the smallest concentration that can be detected to determine the presence or absence of RF. LoB is the highest concentration that is likely to be observed in a blank sample.

#### SPAPLUS

	RF concentration IU/mL
Limit of Blank	2.3
Limit of Detection	3.9
Limit of Quantitation	7.0

#### 12.4 Linearity

The method is linear up to a RF concentration of 105.8 IU/mL.

This gave a regression plot of  $y = 1.03x - 0.58$   $r = 0.999$  ( $y$  = measured RF concentration,  $x$  = theoretical concentration).

#### 12.5 Interference

The analytes below were tested up to the following levels and were found not to interfere:  
 Haemoglobin 1000 mg/dL  
 Intralipid 2000 mg/dL  
 Free Bilirubin 60 mg/dL  
 Conjugated Bilirubin 60 mg/dL  
 Triglycerides 1500 mg/dL

#### 12.6 Antigen excess

Antigen excess effects are not noted until levels approach 390 IU/mL.

### 13 BIBLIOGRAPHY

1. Anderson, S.G., Bentzon, M.W., Houba, V. and Krag, P. Bull. Wld. Hlth. Org. 42: 311-318 (1970).
2. Galvin, J.P. et al., Clin. Lab. Assays 4: 73-95 (1983).
3. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. The Quality of Diagnostic Samples. Brochure in Samples: From the Patient to the Laboratory. 2nd Edition, Darmstadt: GIT- Verlag, 2001.

# Rheumafaktor (RF) zur Verwendung auf dem SPAPLUS®

## Zur *in-vitro* Diagnostik

Bestellnummer: LK151.S

In England hergestellt von:

The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK.  
www.bindingsite.co.uk

Vertrieb in Deutschland, Österreich und der Schweiz durch:

The Binding Site GmbH, Robert-Bosch-Straße 2A,  
D-68723 Schwetzingen, Deutschland

Telefon: +49 (0) 6202 92 62 0

Fax: +49 (0) 6202 92 62 222

e-mail: office@bindingsite.de

SPAPLUS® ist in Europa und USA ein eingetragenes Warenzeichen von The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK.



### 1 VERWENDUNGSZWECK

Dieser Kit dient zur quantitativen *in vitro* Bestimmung des Rheumafaktors (RF) im Serum unter Verwendung des SPAPLUS Analysers.

### 2 EINFÜHRUNG

Die Bestimmung der Rheumafaktoren unterstützt die Diagnose der Rheumatischen Arthritis (RA). Die Agglutinationsreaktion von mit Antikörpern bedeckten Erythrozyten und RA-Serum wurde erstmalig von Waaler und Rose 1940 nachgewiesen. Seither wurde gezeigt, dass diese Reaktion durch bestimmte Faktoren im RA-Serum verursacht wird. Diese Rheumafaktoren sind eine heterogene Gruppe von Auto-Antikörpern mit einem hohen Molekulargewicht, die gegen die körpereigenen Immunglobuline gerichtet sind. Sie werden von Plasmazellen, die sich an Stellen von verletztem Gewebe befinden. Man geht davon aus, dass das auslösende Antigen ein oder mehrere Viren oder virale Antigene sind, die im Gelenkgewebe persistieren. Die Forschung hat gezeigt, dass sowohl Umwelt- als auch genetische Faktoren bei der Produktion von Rheumafaktoren eine Rolle spielen mit vielfachen biologischen Auswirkungen. Rheumafaktoren sind ebenfalls im Serum von Patienten mit Lupus Erythematoses, Hepatitis, Leberzirrhose, Syphilis und diversen anderen Erkrankungen beobachtet worden; hier ist der RF-Titer aber niedriger als bei RA. Zwischen 60 und 80% der Patienten mit einer aktiven RA exprimieren dieses abnormale Protein in ihrem Blut oder ihrer Gelenkflüssigkeit; dessen Nachweis ist von Nutzen für die Diagnose und die Verlaufskontrolle der Erkrankung.<sup>2</sup>

### 3 PRINZIP

Rheumafaktoren sind Antikörper, die gegen den Fc-Teil von IgG gerichtet sind. Die Mehrheit der Rheumafaktoren sind IgM-Antikörper, können aber auch der IgG- oder IgA-Klasse angehören. Rheumafaktoren können bei rheumatischen Erkrankungen und chronisch-entzündlichen Prozessen nachgewiesen werden. Das RF-Latexreagenz ist eine Suspension aus Polystyren-Latexpartikeln einer einheitlichen Größe, die mit humanem IgG beschichtet sind. Wenn Serum, das Rheumafaktor enthält, mit RF-Latexreagenz gemischt wird, kann eine Erhöhung der Trübung bei 570nm gemessen werden. Anhand einer Kalibrationskurve kann die Konzentration an Rheumafaktor bestimmt werden<sup>1</sup>.

### 4 REAGENZIEN

- 4.1 **R1. RF-Reaktionspuffer** enthält Glycinpuffer pH 8,3, Natriumchlorid, EDTA, Rinder-Serum-Albumin, Natriumazid 0,09% w/v.
- 4.2 **R2. RF-Reagenz** enthält Glycin pH 7,3, Natriumchlorid, mit human IgG adsorbierte Latexpartikel, Natriumazid 0,09% w/v.
- 4.3 **RF-Kontrollen** geliefert in 2 Konzentrationen, 'Low' und 'High'. Zielwerte und Vertrauensbereiche sind auf dem Kalibrator/Kontroll-Datenblatt angegeben. Gebrauchsfertig.
- 4.4 **RF-Kalibrator 1-5** Kalibration wurde durchgeführt und die Werte anhand einer immuno-turbidimetrischen Methode ermittelt; standardisiert gegen die Internationale Referenz Preparation, WHO Standard 64/2. Gebrauchsfertig.

### 5 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

Nur für die *in vitro* Diagnostik zu verwenden. Nicht mit dem Mund pipettieren. Führen Sie die üblichen Vorsichtsmaßnahmen aus, die für den Umgang mit Reagenzien im Labor erforderlich sind. Alle Reagenzien enthalten Natriumazid. Verschlucken sowie Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Nach Kontakt Hautstelle mit viel Wasser abspülen. Im Falle von Kontakt mit den Augen oder des Verschluckens sofort ärztlichen Rat einholen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren explosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung mit ausreichender Menge Wasser nachspülen um Azidablagerungen zu vermeiden. Exponierte Metalloberflächen sollten mit 10% Natriumhydroxid gereinigt werden. Jede Kitkomponente humanen Ursprungs wurde negativ bezüglich Antikörper gegen HIV und gegen das Hepatitis-B-Oberflächenantigen mit durch die FDA zugelassenen Methoden befunden. Dennoch, kann das Vorhandensein solcher infektiöser Erreger nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Reagenzien sollten deshalb wie potentiell infektiöses Material behandelt werden. Sicherheitsdatenblätter sind nach Anfrage verfügbar. Alle biologischen und chemischen Materialien sollten entsprechend den lokalen Richtlinien entsorgt werden. **Dieser Test sollte nur für den angegebenen Verwendungszweck von entsprechend geschultem Laborpersonal und unter angemessenen Laborbedingungen durchgeführt werden.**

### 6 LAGERUNG AND STABILITÄT

#### R1. RF-Reaktionspuffer

Wird gebrauchsfertig geliefert. Bis zum Verfallsdatum haltbar wenn bei 2-8°C gelagert. Der RF Reaktionspuffer kann ohne Deckel bis zu 35 Tage im Gerät gelagert werden, vorausgesetzt der Hauptschalter (linke Seite hinten) wird nicht ausgeschaltet.

#### R2. RF-Reagenz

Wird gebrauchsfertig geliefert. Bis zum Verfallsdatum haltbar wenn bei 2-8°C gelagert. Vor Gebrauch mehrmals schwenken, Schaumbildung vermeiden. Das RF Reagenz kann ohne Deckel bis zu 35 Tage im Gerät gelagert werden, vorausgesetzt der Hauptschalter (linke Seite hinten) wird nicht ausgeschaltet.

#### RF-Kontrollen

GEÖFFNET: Kühl lagern (2-8°C). Im Originalbehälter bei geschlossenem Deckel aufbewahrt, ist das Kontrollmaterial bei 2-8°C 30 Tage haltbar, vorausgesetzt es ist frei von Kontamination. Es sollte immer nur die erforderliche Menge entnommen werden. Nach Gebrauch sollte übriges Material NICHT in das Originalfläschchen ÜBERFÜHRT WERDEN.

UNGEÖFFNET: Kühl lagern (2-8°C). Bis zum auf dem Fläschchen gedruckten Verfallsdatum haltbar.

#### RF-Kalibratoren 1-5

GEÖFFNET: Im Originalbehälter bei geschlossenem Deckel aufbewahrt, sind die Kalibratoren bei 2-8°C 28 Tage haltbar, vorausgesetzt sie sind frei von Kontamination. Nach Gebrauch sollte übriges Material NICHT in das Originalfläschchen ÜBERFÜHRT WERDEN.

UNGEÖFFNET: Die RF-Kalibratoren werden gebrauchsfertig geliefert und sind bis zum Verfallsdatum haltbar, wenn bei 2-8°C mit verschlossenen Deckeln gelagert, vorausgesetzt sie sind frei von Kontamination.

## 7 PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Die Verwendung von frischem Serum wird empfohlen. Das Serum kann bei 15-25°C für 24 Stunden, oder bei 2-8°C für 3 Tage nach der Entnahme gelagert werden. Sollte der Test nicht innerhalb dieses Zeitraums durchgeführt werden können, kann das Serum bei einmaligem Einfrieren bei -15 bis -20°C für 4 Wochen gelagert werden. Lipämische oder hämolytische Proben und Proben mit hohen Detergenzkonzentrationen können den Test beeinträchtigen.

## 8 TESTDURCHFÜHRUNG

### 8.1 Gelieferte Materialien

- 8.1.1 1 x 100 Tests RF Reagent SPAPLUS (Latexreagenz)  
8.1.2 1 x 100 Tests RF Reaction Buffer SPAPLUS (Reaktionspuffer)  
8.1.3 1 x RF SPAPLUS Calibrator 1-6 (5 x 1,0ml) (Kalibratorset für RF)  
8.1.4 1 x 1,0mL RF SPAPLUS Low Control (Kontrolle, Low Level)  
8.1.5 1 x 1,0mL RF SPAPLUS High Control (Kontrolle, High Level)

### 8.2 Benötigte, nicht im Kit enthaltene Materialien

- 8.2.1 Laborausrüstung zum Sammeln und Vorbereiten der Proben (Probenröhrchen, Zentrifugen etc.).  
8.2.2 Einen vollausgestatteten und funktionsfähigen SPAPLUS Analyser.  
8.2.3 Aktuelle Geräte-Bedienungsanleitung: SPAPLUS Bedienungsanleitung (FIN012).  
8.2.4 Probendiluenten (99: Dil 1), Binding Site Bestell-Nr.: SN080.S

### 8.3 Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien vorsichtig schwenken bevor sie ins Gerät gestellt werden. Dabei Schaum- und Blasenbildung vermeiden, da dies Störungen beim Pipettieren verursachen kann.

### 8.4 Testdurchführung

Der Anwender sollte mit dem SPAPLUS vertraut sein, bevor der Test durchgeführt wird. Das Gerät, wie im Handbuch des Herstellers beschrieben, vorbereiten. Die Testparameter werden wie nachfolgend aufgeführt eingegeben.

Eine ausführliche Beschreibung entnehmen Sie der SPAPLUS Bedienungsanleitung (FIN012), die mit dem Gerät geliefert wird.

#### 8.4.1 Testparameter

Die Testparameter werden unter Item Nummer 46 angegeben

Item Name 46 RF		<b>DATA INFORMATION</b>		<b>CALIBRATION</b>	
Units	IU/mL	Type	Logit 2	Auto Fill	
Decimals	2	Standard			
<b>ANALYSIS</b>		1 #		4 #	
Type	End	2 #		5 #	
		3 #		6 #	
Main W.Length	570	<b>NORMAL RANGE</b>			
Sub W.Length		MALE		FEMALE	
Method		LOW	HIGH	LOW	HIGH
Serum		[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Urine		[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Plasma		[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
CSF		[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Dialysis		[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Other		[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
CORR.		SLOPE INTER			
Y =	1 X + 0				
Page : 1	Print	Hard Copy	Next Page		Save Return

Item Name 46 RF		<b>DATA PROCESS</b>		<b>ABSORBANCE LIMIT</b>	
<b>ASPIRATION</b>		START	END		
KIND	<input type="radio"/> Single <input checked="" type="radio"/> Double	MAIN	45 46	LOW	-3
		SUB	33 34	HIGH	2
<b>SAMPLE</b>		<b>FACTOR</b>			
REAGENT1 VOL	150 µL	Blank correction	*	<input type="radio"/> ON <input checked="" type="radio"/> OFF	
REAGENT2 VOL	50	ENDPOINT LIMIT	2	CHECK POINT	
		LINEAR CHECK (%)	0	LOW	-3
				HIGH	3
Third mix	<input checked="" type="radio"/> OFF <input type="radio"/> ON	<b>DILUTION</b>			
Blank	<input checked="" type="radio"/> Water - Blank	Diluent		<input checked="" type="radio"/> 99: Dil 1 <input type="radio"/> 100: Dil 2	
		Pre Dilution Rate			
		Auto Rerun Dilution Rate High	10		
		Auto Rerun Dilution Rate Low			
<b>MONITOR</b>		<b>PROZONE CHECK</b>			
0 LEVEL SPAN	1	START	END	LIMIT (%)	Min dOD [ 0 ]
SPAN	3	FIRST	[ ] [ ] [ ]		
		SECOND	[ ] [ ] [ ]	<input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High	
		THIRD	[ ] [ ] [ ]	<input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High	
Page : 2	Print	Prev Page	Next Page	Save	Return

\*Automatisch berechnet

Item Name 46 RF

**Auto Rerun SW**  
 On  Off  
**Auto Rerun Range (Result)**  
 On  Off  On  Off  
 Lower Higher  
 Serum # #  
 Urine # #  
 Plasma # #  
 CSF # #  
 Dialysis # #  
 Other # #

**Auto Rerun Condition (Absorbance)**  
**Absorbance Range**  
 Lower  On  Off  
 Higher  On  Off  
**Prozone Range**  On  Off

**Bottle Size (ml)**  
 24 Items 36 Items  
 Reagent1 60 Reagent 1 0  
 Reagent2 R1 16.0 Reagent2 R1 0  
 Reagent2 R2 6.0 Reagent2 R2 0

Page : 3 Print Prev Page Next Page Save Return

Item Name 46 RF

**Out-of-Range Table**

	NEAT		Pre Dilution		Auto-rerun Dilution(*10)	
	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW
	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#

Page : 4 Prev Page Save Return

**Hinweis.** Die Kalibratorkonzentrationen (Standard #) sind auf dem Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN282.QC) angegeben. Die Kalibratorkonzentrationen auf **Page 1** müssen in aufsteigender Reihenfolge eingegeben werden, d.h. der niedrigste Wert zuerst.

**WICHTIG:** Das Gerät wird die Kalibratorkonzentrationen erst aktualisieren, wenn die **Auto Fill** Taste gedrückt wurde, nachdem der 5. Kalibratorwert auf Page 1 eingegeben wurde. Da dieser Test mit einer extrapolierten Kurve arbeitet, müssen die „Auto Rerun Range (Result)“ (Page 3) und die „Out-of-Range“ (Page 4) Tabellen manuell anhand der Werte, die im Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN282.QC) angegeben sind, aktualisiert werden.

#### 8.4.2 Kontrollvolumina

Unter Verwendung eines SPAPLUS Probengefäßes, das auf dem Rack platziert wird, reichen 150µL Kontrollvolumen aus.

#### 8.5 Messbereich

Der Messbereich dieses Tests beträgt ungefähr 7 bis 104 IU/mL. Bei einer höheren Nachverdünnung erhöht sich der obere Messbereich auf 1040 IU/mL. Diese Werte sind chargenspezifisch und abhängig von dem in Gebrauch befindlichen Kalibrator.

SPAPLUS Geräteverdünnung	Ungefährer Messbereich (IU/mL)
1/1	7 – 104
1/10	70 – 1040

### 9 QUALITÄTSKONTROLLE

Die mitgelieferten Kontrollen sollten in allen Testläufen verwendet werden. Die RF-Konzentration ist auf dem im Kit befindlichen Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN282.QC) angegeben. Gemessene Probenergebnisse sollten nur verwendet werden, wenn die Kontrollergebnisse sich innerhalb des ±20% Vertrauensbereichs befinden.

### 10 GRENZEN DES TESTS

- 10.1 Dieser Test ist nicht für die Bestimmung von lipämischen oder hämolytischen Proben, oder Proben, die zirkulierende Immunkomplexe (CIC) enthalten, geeignet, da diese Proben einen nicht vorhersagbaren Anteil an unspezifischer Trübung erzeugen können. Ungewöhnliche Ergebnisse sollten mit einer alternativen Methode überprüft werden.
- 10.2 Es wird dringend angeraten alle Kontrollen in jedem Testlauf mitzuführen. Liegt eine Kontrolle außerhalb des Vertrauensbereichs und wurde eine gespeicherte Kalibrationskurve verwendet, so wird empfohlen den Test neu zu kalibrieren. Liegt die Kontrolle auch nach der neuen Kalibration außerhalb des Vertrauensbereichs sollten das Gerät und die programmierten Testparameter überprüft werden. Lässt sich das Problem nicht lösen, wenden Sie sich bitte an Ihre Lieferfirma.
- 10.3 Die Diagnose und die Einleitung einer Therapie dürfen nicht ausschließlich auf der RF-Bestimmung basieren. Das klinische Bild und andere Labor-Befunde müssen ebenfalls berücksichtigt werden.

### 11 ERWARTETE WERTE

Ein Cut-off-Wert für den oberen Normalwertbereich ist umstritten. Dennoch, Werte unterhalb 10 IU/mL werden als normal betrachtet. Die WHO (World Health Organisation) hat einen Wert von 12,5 IU/mL als obere normale Konzentration vorgeschlagen.<sup>1</sup> Es wird empfohlen, dass jedes Labor einen Normalbereich ermittelt, um die geographische Lage, das Alter, Geschlecht und die Ernährungsgewohnheiten der Bevölkerung widerzuspiegeln.

### 12 LEISTUNGSDATEN

Folgende Leistungsdaten wurden unter Verwendung eines SPAPLUS Systems ermittelt.

#### 12.1 Präzision

RF-Präzisions-Zusammenfassung						
	n	Mittelwert (IU/ml)	Intra-Assay		Gesamt-Präzision	
			SD	VK%	SD	VK%
Serum 1	80	15,28	0,58	3,8%	0,90	5,9%
Serum 2	80	43,77	1,36	3,1%	1,69	3,9%
Serum 3	80	76,7	1,87	2,4%	2,04	2,7%

#### 12.2 Methodenvergleich

Diese Methode (y) wurde mit einer anderen kommerziell erhältlichen Methode (x) verglichen; dabei wurden folgende Passing Bablok Regressionsgleichung und Korrelationskoeffizient ermittelt:

$$y = 0,98x - 0,39 \text{ und } r = 0,996$$

68 Patientenproben wurden in einem Bereich von 7,2 – 99,5 IU/mL gemessen.

#### 12.3 Analytische Sensitivität

Die Bestimmungs-, Nachweis- und Leerwertgrenzen wurden einheitlich gemäß der CLSI Richtlinie EP17-A2 bestimmt. Die Bestimmungsgrenze ist die kleinste Konzentration, die zuverlässig bestimmt werden kann. Die Nachweisgrenze bezeichnet die kleinste Konzentration mit welcher der RF gerade noch nachgewiesen werden kann. Die Leerwertgrenze ist die höchste Konzentration, die wahrscheinlich in der Leerwertprobe beobachtet werden kann.

#### SPAPLUS

	RF-Konzentration IU/mL
<b>Leerwertgrenze</b>	<b>2,3</b>
<b>Nachweisgrenze</b>	<b>3,9</b>
<b>Bestimmungsgrenze</b>	<b>7,0</b>

#### 12.4 Linearität

Die Methode ist bis zu einer RF-Konzentration von 105,8 IU/mL linear.

Folgende lineare Regressionsgleichung wurde ermittelt:

$$y = 1,03x - 0,58; r = 0,999 \text{ (y = gemessene RF-Konzentration, x = theoretische Konzentration).}$$

#### 12.5 Interferenzen

Folgende Analyte wurden bis zu den angegebenen Konzentrationen getestet und verursachten keine Interferenzen:

- Hämoglobin 1000 mg/dL
- Intralipid 2000 mg/dL
- Freies Bilirubin 60 mg/dL
- Konjugiertes Bilirubin 60 mg/dL
- Triglyceride 1500 mg/dL

#### 12.6 Antigenüberschuss

Bis zu einer Konzentration von 390 IU/mL wurden keine Antigenüberschuss-Effekte beobachtet.

### 13 REFERENZEN

1. Anderson, S.G., Bentzon, M.W., Houba, V. and Krag, P. Bull. Wld. Hlth. Org. 42: 311-318 (1970).
2. Galvin, J.P. et al., Clin. Lab. Assays 4: 73-95 (1983).
3. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. The Quality of Diagnostic Samples. Brochure in Samples: From the Patient to the Laboratory. 2nd Edition, Darmstadt: GIT- Verlag, 2001.

# Coffret Facteur Rhumatoïde (FR) pour utilisation sur SPAPLUS®

## Pour un usage en diagnostic *in-vitro*

Référence : LK151.S

Produit fabriqué en Angleterre par la société :  
The Binding Site Group Ltd, 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, U.K.  
www.bindingsite.co.uk

Distribués en France par la société :  
The Binding Site France, 14 rue des Glairaux, CS 30026, 38522 Saint Egrève Cedex  
Téléphone : 04.38.02.19.19  
Fax : 04.38.02.19.20  
E-mail: info@bindingsite.fr

En Europe et aux USA, SPAPLUS® est une marque déposée de The Binding Site Group Ltd, Birmingham, RU.



### 1 INDICATIONS

Ce coffret est destiné à la quantification *in vitro* du Facteur Rhumatoïde (FR) dans le sérum humain en utilisant le turbidimètre SPAPLUS de Binding Site.

### 2 PRESENTATION GENERALE

Ce système de test est destiné à être utilisé dans l'aide au diagnostic de la Polyarthrite Rhumatoïde (PR). La réaction d'agglutination entre les anticorps recouvrant les globules rouges et les sérums de patients atteints de PR a initialement été démontrée par Waaler et Rose en 1940. Depuis, il a été montré que la réaction est due à certains facteurs présents dans les sérums de patients atteints de PR. Ces facteurs rhumatoïdes constituent un groupe hétérogène d'auto-anticorps de haut poids moléculaire dirigés contre les immunoglobulines propres de l'organisme. Ils sont produits par les plasmocytes présents au niveau de lésions tissulaires. Il apparaît que l'antigène initial consiste en un ou plusieurs virus ou des antigènes viraux qui persistent dans les tissus articulaires. La recherche a montré que les facteurs environnementaux et génétiques peuvent affecter la production des facteurs rhumatoïdes avec des propriétés biologiques variées. Les facteurs rhumatoïdes ont également été observés dans le sérum de patients atteints de lupus érythémateux, d'hépatite, de cirrhose du foie, de syphilis et d'autres pathologies variées, mais avec des taux plus faibles qu'en cas de PR. Entre 60 et 80 % des patients atteints de PR active présentent cette protéine anormale dans leur sang ou liquide articulaire, ainsi sa détection présente un intérêt dans le diagnostic et le suivi de la maladie.<sup>2</sup>

### 3 PRINCIPE

Les facteurs rhumatoïdes sont des anticorps dirigés contre le fragment Fc des immunoglobulines G (IgG). La majorité des facteurs rhumatoïdes sont des IgM, mais peuvent aussi être des IgG ou IgA. Les pathologies favorisant l'augmentation de tels facteurs incluent les maladies rhumatismales et les processus d'inflammation chroniques. Le réactif latex FR correspond à une suspension de particules de latex polystyrène de taille uniforme recouvertes d'IgG humaines. Lorsque le sérum contenant du facteur rhumatoïde est mélangé avec le réactif latex FR, une augmentation de turbidité est mesurée à 570nm. Une courbe de calibration est établie à partir des absorbances des calibrateurs et la concentration en facteurs rhumatoïdes peut être déterminée<sup>1</sup>.

### 4 REACTIFS

- 1 Tampon de réaction FR R1 contenant tampon de glycine (pH 8,3), Sel disodique d'acide éthylènediamine tetra-acétique de sodium dihydraté, chlorure de sodium, albumine sérique bovine, 0,09 % azide de sodium p/v.
- 2 Réactif FR R2 IgG humaines couplées à des particules de latex polystyrène, contenant glycine (pH 7,3) et 0,09 % azide de sodium p/v.
- 3 Contrôles FR fournis à deux niveaux, Bas et Haut. Les valeurs cibles et intervalles de valeurs attendus sont indiqués dans le Certificat de Contrôle Qualité. Prêts à l'emploi.
- 4 Calibrateurs 1 à 5 FR La calibration a été effectuée et les valeurs assignées, en utilisant une méthode immunoturbidimétrique standardisée contre la Préparation de Référence Internationale, Standard WHO 64/2. Prêts à l'emploi.

### 5 PRECAUTIONS

Pour un usage en diagnostic *in-vitro* seulement. Ne pas pipeter à la bouche. Respecter les précautions requises classiques pour la manipulation des réactifs de laboratoire. Tous les réactifs contiennent de l'azide de sodium. Eviter toute ingestion ou contact avec la peau ou les muqueuses. En cas de contact avec la peau, rincer abondamment avec de l'eau la zone touchée. En cas de contact avec les yeux ou d'ingestion, demander immédiatement un avis médical. L'azide de sodium peut réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre pour former des azides de métaux explosifs. Lors de l'élimination de ces réactifs, rincer avec de grandes quantités d'eau pour éviter l'accumulation d'azide. Les surfaces de métal exposées doivent être nettoyées avec de l'hydroxyde de sodium à 10 %. Chaque composant à base humaine fourni dans ce coffret a été testé et trouvé négatif pour la présence d'anticorps anti-HIV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B par des méthodes approuvées par la FDA. Cependant, aucune méthode ne pouvant offrir 100% de garantie, ces réactifs doivent être manipulés comme des produits potentiellement infectieux. Les Fiches de Données de Sécurité sont disponibles sur demande. Veuillez éliminer tous les matériaux biologiques et chimiques selon les recommandations en vigueur. Les réactifs doivent être utilisés uniquement pour l'usage préconisé par un personnel de laboratoire qualifié, dans des conditions de laboratoire appropriées.

### 6 STOCKAGE ET STABILITE

**Tampon de réaction FR R1**  
Prêt à l'emploi. Stable jusqu'à la date de péremption si stocké entre 2 et 8 °C. Le tampon de réaction FR peut être stocké non fermé, jusqu'à 35 jours sur l'automate, à condition que l'interrupteur principal (situé à l'arrière, du côté gauche) reste sous tension.

### Réactif FR R1

Prêt à l'emploi. Stable jusqu'à la date de péremption si stocké entre 2 et 8°C. Mélanger par inversion plusieurs fois avant utilisation en évitant la formation de bulles. Le réactif FR peut être stocké non fermé, jusqu'à 35 jours sur l'automate, à condition que l'interrupteur principal (situé à l'arrière, du côté gauche) reste sous tension.

### Contrôles FR

**APRES OUVERTURE** : Conserver au réfrigérateur (2-8°C). Stable jusqu'à 30 jours à 2-8°C à condition d'être conservé dans le flacon d'origine bouché, sans aucune contamination. Seule la quantité de produit requise doit être prélevée. Après utilisation, NE PAS REMETTRE de produit restant dans le flacon d'origine.

**AVANT OUVERTURE** : Conserver au réfrigérateur (2-8°C). Stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur chaque flacon.

### Calibrateurs 1 à 5 FR

**APRES OUVERTURE** : Conserver au réfrigérateur (2-8°C). Stable jusqu'à 28 jours à 2-8°C à condition d'être conservé dans le flacon d'origine bouché, sans aucune contamination. Seule la quantité de produit requise doit être prélevée. Après utilisation, NE PAS REMETTRE de produit restant dans le flacon d'origine.

**AVANT OUVERTURE** : Les calibrateurs FR sont fournis prêts à l'emploi et sont stables jusqu'à la date de péremption à condition d'être conservés dans les flacons d'origine bouchés, sans aucune contamination.

## 7 PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON

L'utilisation de sérum frais est recommandée. Le sérum peut être conservé à 15-25°C pendant 24 heures ou à 2-8°C pendant 3 jours après la collecte. Si le test ne peut pas être effectué dans ce laps de temps, le sérum doit être congelé à -15°C à -20°C pendant 4 semaines. Les échantillons lipidiques ou hémolysés ainsi que des taux de détergents élevés peuvent interférer avec le dosage.

## 8 METHODOLOGIE

### 8.1 Matériels fournis

- 1 x 100 tests RF Reagent SPAPLUS (Réactif FR SPAPLUS)
- 1 x 100 tests RF Reaction Buffer SPAPLUS (Tampon de Réaction FR SPAPLUS)
- 1 x RF SPAPLUS Calibrator 1-5 (5 x 1.0mL calibrator set for RF) (Ensemble de calibrateurs FR SPAPLUS)
- 1 x 1.0mL RF SPAPLUS Low Control (Contrôle Bas FR SPAPLUS).
- 1 x 1.0mL RF SPAPLUS High Control (Contrôle Haut FR SPAPLUS)

### 8.2 Matériels requis mais non fournis

- Matériel nécessaire au prélèvement et à la préparation des échantillons : tubes, centrifugeuse, etc.
- Un automate SPAPLUS opérationnel et équipé.
- Instructions de fonctionnement à jour de l'automate : SPAPLUS Guide de référence (référence FIN012).
- Coffret de diluant échantillon 1 SPAPLUS (99 : Dil 1), Référence : SN080.S

### 8.3 Préparation du réactif

Avant de charger le réactif, le mélanger doucement par inversion et veiller à ce qu'aucune mousse ou bulle ne soit générée ou laissée à la surface car cela pourrait interférer avec l'aspiration du réactif.

### 8.4 Procédure de test

L'utilisateur doit être familiarisé avec le maniement de l'automate SPAPLUS avant de lancer le test. L'appareil doit être préparé selon les recommandations du fabricant et le protocole doit être saisi de la façon suivante.

Pour plus de détails sur les opérations pour l'automate, se référer au guide de référence du SPAPLUS (FIN012) fourni avec la machine.

### 8.4.1 Paramètres de test

Les paramètres du test sont entrés sous le numéro d'item 46.

Item Name 46 RF		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		Type Logit 2	Auto Fill
Units	IU/mL	Standard	
Decimals	2	1 #	4 #
ANALYSIS		2 #	5 #
Type	End	3 #	6 #
Main W.Length 1	570	NORMAL RANGE	
Sub W.Length		MALE FEMALE	
Method		LOW HIGH LOW HIGH	
Serum	[ ] [ ] [ ] [ ]		
Urine	[ ] [ ] [ ] [ ]		
Plasma	[ ] [ ] [ ] [ ]		
CSF	[ ] [ ] [ ] [ ]		
Dialysis	[ ] [ ] [ ] [ ]		
Other	[ ] [ ] [ ] [ ]		
CORR.			
Y =	SLOPE INTER		
	1 X + 0		
Page : 1		Print	Hard Copy
		Next Page	Save Return

Item Name 46 RF		DATA PROCESS	
READ		ASPIRATION	
KIND	START END	MAIN	START END
o Single • Double	45 46	SUB	33 34
VOLUME		LOW	-3
5		HIGH	2
SAMPLE		FACTOR	
REAGENT1 VOL	150 µL	Blank correction	* o ON • OFF
REAGENT2 VOL	50	ENDPOINT LIMIT	2 CHECK POINT
Third mix		LINEAR CHECK (%)	0 LOW HIGH
• OFF o ON			-3 3
Blank	• Water - Blank	DILUTION	
		Diluent	• 99: Dil 1 o100: Dil 2
		Pre Dilution Rate	
		Auto Rerun Dilution Rate High	10
		Auto Rerun Dilution Rate Low	
MONITOR		PROZONE CHECK	
0 LEVEL SPAN 1		START END LIMIT (%)	Min dOD [ 0 ]
SPAN 3		FIRST	[ ] [ ] [ ] [ ]
		SECOND	[ ] [ ] [ ] [ ]
		THIRD	[ ] [ ] [ ] [ ]
			oLow • High
			oLow • High
Page : 2		Print	Hard Copy
		Prev Page	Next Page Save Return

\*Calculé automatiquement



# Kit Factor Reumatoide (RF) para uso en SPAPLUS®

Para uso diagnóstico *in-vitro*

Código de Producto: LK151.S

Fabricado en Reino Unid.:  
The Binding Site Group Ltd, 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, U.K.  
www.bindingsite.co.uk

The Binding Site Group Limited Sucursal en España  
Bruc 72 2ª planta, 08009 Barcelona, España  
Teléfono 902027750  
Fax: 902027752  
e-mail: info@bindingsite.es  
web: www.bindingsite.es

En Europa y en los Estados Unidos, SPAPLUS® es una marca registrada de The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK.



## 1 APLICACIÓN

El sistema de análisis de Factor Reumatoide (RF) está diseñado para la determinación cuantitativa *in vitro* de la concentración en suero de factor reumatoide en el analizador SPAPLUS.

## 2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El objetivo de este sistema de análisis es servir de ayuda en el diagnóstico de la artritis reumatoide (AR). La reacción de aglutinación entre glóbulos rojos recubiertos de anticuerpo y suero AR fue demostrada inicialmente por Waaler y Rose en 1940. Desde entonces se ha observado que esta reacción la provocan ciertos factores del suero AR. Estos factores reumatoides son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos de elevado peso molecular dirigidos contra las propias inmunoglobulinas del organismo. Los producen las células plasmáticas presentes en el tejido dañado. Se piensa que el antígeno iniciador es uno o más virus o antígenos virales que persisten en el tejido de las articulaciones. Hay estudios que han demostrado que factores genéticos y medioambientales pueden afectar a la producción de factores reumatoides con varias propiedades biológicas. También se han encontrado factores reumatoides en el suero de pacientes con lupus eritematoso, hepatitis, cirrosis hepática, sífilis y otra variedad de enfermedades, pero el título de RF es bastante más bajo que en AR. Entre un 60 y 80% de pacientes con AR activa presentan esta proteína anormal en la sangre y fluido sinovial, de modo que su detección es valiosa para el diagnóstico y monitorización de la enfermedad.<sup>2</sup>

## 3 PRINCIPIO

Los factores reumatoides son anticuerpos dirigidos contra la porción Fc de IgG. La mayoría de los factores reumatoides son anticuerpos IgM, pero también pueden ser IgG o IgA. Entre las condiciones clínicas que provocan el aumento de estos factores se encuentran las condiciones reumáticas y procesos inflamatorios crónicos. El reactivo látex RF es una suspensión de partículas de látex poliestireno de tamaño uniforme recubiertas con IgG humana. Al mezclar suero que contiene factor reumatoide con el reactivo látex RF se puede determinar un aumento de la turbidez a 570nm. Se puede determinar la concentración de factor reumatoide construyendo una curva estándar a partir de la absorbancia de los calibradores<sup>1</sup>.

## 4 REACTIVOS

- R1. Buffer de reacción RF.** Contiene buffer de glicina pH 8,3, cloruro sódico, ácido etilendiaminetetraacético en forma de sal disódica dihidrato, albúmina de suero bovino y azida sódica 0,09% p/v.
- R2. Reactivo RF.** Contiene buffer glicina pH 7,3, cloruro sódico, IgG humana adsorbida en partículas de látex y azida sódica 0,09% p/v.
- Controles RF.** Suministrados en 2 niveles, bajo y elevado. Los rangos y valores diana se especifican en el certificado de control de calidad que acompaña al kit. Listos para usar.
- Calibrador RF 1-5.** Se ha llevado a cabo la calibración y se han asignado los valores usando un método inmunoturbidimétrico estandarizado según la preparación internacional de referencia 64/2 de la OMS. Listo para usar.

## 5 PRECAUCIONES

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*. No pipeteo con la boca. Tome las precauciones habituales requeridas para la manipulación de reactivos de laboratorio. Todos los reactivos contienen azida sódica. No trague ni permita el contacto con la piel o las mucosas. En caso de contacto con la piel, lave la zona afectada con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o ingestión, busque asistencia médica inmediatamente. Con el plomo y el cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, lave con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida. Las superficies metálicas expuestas se deben limpiar con hidróxido de sodio al 10%. Todos los componentes de origen humano del kit han resultado negativos a la presencia de los anticuerpos frente al VIH y del antígeno de superficie de la hepatitis B mediante técnicas aprobadas por la FDA. Sin embargo, dado que ningún método puede ofrecer una seguridad al completo, deben tratarse estos reactivos como potencialmente infecciosos. Las hojas de datos de seguridad del material están a su disposición bajo petición. Elimine todo el material biológico y químico de acuerdo a las directrices locales. **Los reactivos sólo deben utilizarse por personal especializado con el objetivo descrito, en un laboratorio en condiciones apropiadas.**

## 6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

### R1. Buffer de reacción RF

Listo para usar. Estable hasta la fecha de caducidad si se conserva a 2-8°C. El Buffer de reacción RF se puede conservar, sin proteger, hasta 35 días en el analizador, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación (situado en la parte posterior del panel izquierdo).

### R2. Reactivo RF

Listo para usar. Estable hasta la fecha de caducidad si se conserva a 2-8°C. Invertir varias veces antes de usar evitando la formación de espuma. El Reactivo RF se puede conservar, sin proteger, hasta 35 días en el analizador, siempre y cuando se deje

encendido el interruptor de alimentación (situado en la parte posterior del panel izquierdo).

### Controles RF

ABIERTOS: Conservar refrigerados (2-8°C). El material de control de proteínas es estable durante 30 días a 2-8°C si se conserva en su envase original con la tapa puesta y sin contaminación. Sólo se debe retirar la cantidad de producto necesaria. Tras su uso, NO SE DEBE DEVOLVER ningún resto de producto al vial original.

SIN ABRIR: Conservar refrigerados (2-8°C). Estables hasta la fecha de caducidad indicada en cada uno de los viales.

### Calibrador RF 1-5

ABIERTOS: Conservar refrigerados (2-8°C). Los calibradores son estable durante 28 días a 2-8°C si se conservan en sus envase original con la tapa puesta y sin contaminación. Sólo se debe retirar la cantidad de producto necesaria. Tras su uso, NO SE DEBE DEVOLVER ningún resto de producto al vial original.

SIN ABRIR: Los calibradores RF se suministran listos para usar y son estables hasta la fecha de caducidad si se conservan a 2-8°C con la tapa puesta y sin presencia de contaminación.

## 7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Se recomienda el uso de suero fresco. El suero se puede conservar a 15-25°C durante 24 horas o a 2-8°C durante los 3 días posteriores a su obtención. Si el análisis no se puede realizar en este período, el suero se debe congelar una única vez y conservar a una temperatura entre -15°C y -20°C hasta un máximo de cuatro semanas. Evitar el uso de sueros lipémicos, hemolizados o niveles altos de detergentes ya que pueden interferir con el ensayo.

## 8 METODOLOGÍA

### 8.1 Material suministrado

- 1 x 100 tests *RF Reagent SPAPLUS* (Reactivo RF para uso en SPAPLUS)
- 1 x 100 tests *RF Reaction Buffer SPAPLUS* (Buffer de reacción RF para uso en SPAPLUS)
- 1 x *RF SPAPLUS Calibrator 1-5* (Conjunto de 5 x 1.0mL calibradores para RF).
- 1 x 1.0mL *RF SPAPLUS Low Control* (Control bajo RF para uso en SPAPLUS)
- 1 x 1.0mL *RF SPAPLUS High Control* (Control elevado RF para uso en SPAPLUS)

### 8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- Equipamiento de laboratorio para la recolección y preparación de muestras (probetas para las muestras, centrífuga, etc.).
- Un analizador SPAPLUS completamente equipado.
- Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual del usuario SPAPLUS, Código FIN012.
- Diluyente de muestra (99: Dil 1) Código de Producto: SN080.S.

### 8.3 Preparación de los reactivos

Antes de cargar, mezclar por inversión evitando que se formen espuma o burbujas o que se queden en la superficie ya que pueden interferir en la aspiración de los reactivos.

### 8.4 Procedimiento de la prueba

El usuario deberá estar familiarizado con el funcionamiento del equipo SPAPLUS antes de realizar la prueba. Preparar el equipo según el manual del fabricante y el protocolo de prueba introducido tal y como se describe a continuación.

Consulte información más detallada sobre el funcionamiento del analizador en el Manual del usuario SPAPLUS (FIN012) suministrado junto con el analizador.

### 8.4.1 Parámetros de la prueba

Los parámetros del ensayo están introducidos en el ítem número 46

Item Name 46 RF		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		Type	Logit 2 <input type="button" value="Auto Fill"/>
Units	IU/mL	Standard	
Decimals	2	1 #	4 #
ANALYSIS		2 #	5 #
Type	End	3 #	6 #
Main W.Length 1	570	NORMAL RANGE	
Sub W.Length		MALE	FEMALE
Method		LOW HIGH	LOW HIGH
CORR.		Serum [ ] [ ] [ ] [ ]	
Y =		Urine [ ] [ ] [ ] [ ]	
SLOPE INTER		Plasma [ ] [ ] [ ] [ ]	
1 X + 0		CSF [ ] [ ] [ ] [ ]	
		Dialysis [ ] [ ] [ ] [ ]	
		Other [ ] [ ] [ ] [ ]	
Page : 1	Print	Hard Copy	Next Page Save Return

Item Name 46 RF		DATA PROCESS	
ASPIRATION		START END	ABSORBANCE LIMIT
KIND	<input type="radio"/> Single <input checked="" type="radio"/> Double	MAIN 45 46	LOW -3
VOLUME	5	SUB 33 34	HIGH 2
SAMPLE	5	FACTOR	
REAGENT1 VOL	150 µL	Blank correction	<input type="radio"/> ON <input checked="" type="radio"/> OFF
REAGENT2 VOL	50	ENDPOINT LIMIT	2 CHECK POINT
Third mix		LINEAR CHECK (%)	0 LOW -3
Blank	<input checked="" type="radio"/> OFF <input type="radio"/> ON		HIGH 3
DILUTION		DILUTION	
Diluent		<input checked="" type="radio"/> 99: Dil 1 <input type="radio"/> 100: Dil 2	
Pre Dilution Rate		Auto Run Dilution Rate High 10	
Auto Run Dilution Rate Low		Auto Run Dilution Rate Low	
MONITOR		PROZONE CHECK	
0 LEVEL SPAN 1		START END LIMIT (%)	Min dOD [ 0 ]
SPAN 3		FIRST [ ] [ ] [ ] [ ]	<input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High
		SECOND [ ] [ ] [ ] [ ]	<input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High
		THIRD [ ] [ ] [ ] [ ]	<input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High
Page : 2	Print	Prev Page	Next Page Save Return

\* Calculado automáticamente

Item Name 46 RF

**Auto Rerun SW**  
 On  Off

**Auto Rerun Range (Result)**  
 On  Off  On  Off

Lower Higher  
 Serum # #  
 Urine # #  
 Plasma # #  
 CSF # #  
 Dialysis # #  
 Other # #

**Auto Rerun Condition (Absorbance)**  
**Absorbance Range**  
 Lower Higher  On  Off  
 On  Off

**Prozone Range**  
 On  Off

**Bottle Size (ml)**  
 24 Items 36 Items  
 Reagent1 60 Reagent 1 0  
 Reagent2 R1 16.0 Reagent2 R1 0  
 Reagent2 R2 6.0 Reagent2 R2 0

Page : 3 Print Prev Page Next Page Save Return

Item Name 46 RF

**Out-of-Range Table**

	NEAT		Pre Dilution		Auto-rerun Dilution(*10)	
	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#

Page : 4 Print Prev Page Next Page Save Return

N.B. Los valores de comprobación del calibrador (# Estándar) se encuentran en el certificado de control de calidad (SIN282.QC). Los valores del calibrador en **Page 1** se deben introducir en orden ascendente, el valor más bajo en primer lugar. **IMPORTANTE:** el analizador sólo actualizará los valores del calibrador siempre y cuando se pulse el botón **Auto Fill** tras introducir el valor del calibrador 5 en Page: 1. El ensayo utiliza una curva de calibración extrapolada, por lo tanto las tablas Auto Rerun Range (Result) (Page 3) y Out-of-Range (Page 4) se deben actualizar manualmente con los valores indicados en el certificado de control de calidad (SIN282.QC)

### 8.4.3 Volúmenes de control

Transfiera 150µL de fluido de control a un tubo de muestras y colóquelo en el rack.

### 8.5 Rango de medición

El rango aproximado de medición de este ensayo es de 7 a 104 IU/mL. En caso de redilución del análisis, el límite superior del ensayo se incrementa a 1040 IU/mL. Estos valores dependen del lote específico de calibrador que se esté usando.

Dilución del analizador SPAPLUS	Rango aproximado de medición (IU/mL)
1/1	7 – 104
1/10	70 – 1040

## 9 CONTROL DE CALIDAD

Los controles suministrados se deben incluir en todas las ejecuciones del ensayo. La concentración de RF está indicada en el Certificado de control de calidad que acompaña al producto (SIN282.QC). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del ±20% de las concentraciones indicadas.

## 10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 Estos kits no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CICs) dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- 10.7 Se recomienda encarecidamente ensayar todos los controles con cada lote de muestras a ensayar. Si una medida de control queda fuera de rango cuando se ensaya con una curva de calibración guardada se recomienda volver a analizar el control con la misma curva. Si con la nueva curva los valores de control quedan aún fuera de rango, se debe revisar el instrumento y los parámetros introducidos antes de repetir el ensayo. Si los problemas continúan, contacte con su proveedor.
- 10.8 No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de RF, deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio

## 11 VALORES ESPERADOS

El valor de corte que constituye el límite superior de normalidad es discutible. Sin embargo se consideran dentro del rango de normalidad los valores inferiores a 10 IU/mL. La Organización Mundial de la Salud sugiere un nivel de aproximadamente 12,5 IU/mL como límite superior de normalidad.<sup>1</sup> Se recomienda que cada laboratorio establezca un rango esperado para reflejar la localización geográfica y la edad, sexo y dieta de la población.

## 12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Los siguientes datos sobre el rendimiento se obtuvieron usando un analizador SPAPLUS.

### 12.1 Precisión

Resumen de precisión RF						
	n	Media (IU/ml)	Intra-ensayo		Precisión total	
			SD	CV %	SD	CV %
Suero 1	80	15,28	0,58	3,8%	0,90	5,9%
Suero 2	80	43,77	1,36	3,1%	1,69	3,9%
Suero 3	80	76,7	1,87	2,4%	2,04	2,7%

### 12.2 Estudio comparativo

Se comparó este método (y) con otro método alternativo disponible en el mercado (x) y se obtuvo la siguiente regresión Passing Bablok:

$$y = 0.98x - 0.39$$

y un coeficiente de correlación de  $r = 0,996$

Se analizaron 68 muestras de pacientes abarcando un rango de 7.2 – 99.5 IU/mL.

### 12.3 Sensibilidad analítica

El límite de la Cuantificación (LoQ), el límite de la Detección (LoD) y el límite del Blanco (LoB) fueron determinados de forma consistente con las recomendaciones de la CLSI EP17-A2. LoQ es la mínima concentración que puede ser detectada de manera fiable. LoD es la mínima concentración que puede ser detectada para determinar la presencia o ausencia de FR. LoB es la concentración más alta que es posible observar en una muestra de blanco.

### SPAPLUS

	Concentración FR IU/mL
Límite de Blanco	2.3
Límite de Detección	3.9
Límite de Cuantificación	7.0

### 12.4 Linealidad

Este método es lineal hasta una concentración de RF de 105,8 IU/mL.

Esto dio una curva de regresión de  $y = 1,03x - 0,58$   $R = 0,999$  (y = concentración de RF medida, x = concentración teórica).

### 12.5 Sustancias interferentes

Se analizaron los siguientes analitos hasta los niveles que se indican sin que resultaran interferentes:

- 1000 mg/dL de hemoglobina
- 2000 mg/dL de intralipida
- 60 mg/dL de bilirrubina libre
- 60 mg/dL de bilirrubina conjugada
- 1500 mg/dL de triglicéridos

### 12.6 Exceso de antígeno

Sin presencia de exceso de antígeno hasta niveles de cerca de 390 IU/mL.

## 13 BIBLIOGRAFIA

- Anderson, S.G., Bentzon, M.W., Houba, V. and Krag, P. Bull. Wild. Hlth. Org. 42: 311-318 (1970).
- Galvin, J.P. et al., Clin. Lab. Assays 4: 73-95 (1983).
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. The Quality of Diagnostic Samples. Brochure in Samples: From the Patient to the Laboratory. 2nd Edition, Darmstadt: GIT- Verlag, 2001.