

Order information:

Catalog No.	Contents			
7581	R1	2 x	20 ml	R2 1 x 15 ml
H8701 Hit I (ILab*)	R1	6 x	19 ml	R2 6 x 7 ml
H8703 Hit 917 (AU*)	R1	4 x	56 ml	R2 4 x 20 ml
AU8703 AU	R1	4 x	56 ml	R2 4 x 20 ml

(*) Kit contains only reagent barcode for Hitachi system.

System information:

Hitachi 911/917: ACN 017
For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Immunoturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of rheumatoid factors in human serum and plasma. Measurements may be used as an aid in the diagnosis of rheumatoid arthritis.

Summary:

Rheumatoid factors are a heterogeneous group of autoantibodies directed against the antigenic determinants on the Fc-region of IgG molecules. They are important in the diagnosis of rheumatoid arthritis, but can also be found in other inflammatory-rheumatic diseases and in various non-rheumatic diseases. They are also found in clinically healthy persons over 60 years of age. Despite these restrictions, the detection of rheumatoid factors is a diagnostic criterion of the American College of Rheumatology for classifying rheumatoid arthritis. These autoantibodies occur in all the immunoglobulin classes, although the usual analytical methods are limited to the detection of rheumatoid factors of the IgM type.

The classic procedure for the quantisation of rheumatoid factors is by agglutination with IgG-sensitized sheep erythrocytes or latex particles. Particular problems of these semi-quantitative methods are the poor between-laboratory precision and reproducibility, together with standardization difficulties. For these reasons, new assay methods such as nephelometry, turbidimetry, enzyme-immuno-assays and radioimmunoassays have been developed. The Analyticon RF assay is based on the immunological agglutination principle with enhancement of the reaction by latex particles.

Test principle:

Particle enhanced immunoturbidimetric assay.

- Sample and addition of R1 (buffer)
 - Addition of R2 (latex-bound IgG/buffer) and start of reaction
- Latex-bound heat-inactivated IgG (antigen) reacts with the RF-antibodies in the sample to form antigen/antibody complexes. Following agglutination is measured turbidimetrically.

Reagent concentration:

R1:	
Glycine buffer, pH 8.0	170 mmol/l
Citric acid	1.47 %
Preservative	
R2:	
Latex particles coated with human IgG	0.17 %
Glycine buffer, pH 7.3	170 mmol/l
Preservative	

Preparation and stability

R1: Ready for use.
R2: Ready for use. **Mix the reagent well once weekly.**
Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C
Onboard stability at +2°C to +8°C: R1: 90 days
R2: 90 days

Specimen

Collect serum using standard sampling tubes
Li-/Na-heparin, EDTA plasma

Stability:	24 hours	at +20°C to +25°C
	3 days	at +2°C to +8°C
	4 weeks (do not refreeze)	at -20°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 60 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 60 mg/dl).
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1000 (approximate haemoglobin concentration: 1000 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): Elevated levels of triglycerides may interfere. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.
No high-dose hook-effect up to RF-activities of 300 IU/ml.
Thirty one commonly used pharmaceuticals were tested in vitro. No interference with the assay was found. The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Notes:

For in vitro diagnostic use.
The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

- Working solutions as described above
- Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual procedure:		
Wavelength:		570 nm
Temperature:		+37°C
Cuvette:		1 cm
Zero adjustment:		against reagent blank
	Blank	Sample/ Calibrator
Sample/ Calibrator	---	30 µl
R1	900 µl	900 µl
Mix, incubate. 5 min. Then add:		
R2	300 µl	300 µl
Mix, read absorbance A ₁ after 30s. Incubate 5 min. and read absorbance A ₂ .		
Calculation:		
$\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ sample or calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ blank}]$		
The concentration of RF in patient sera has to be calculated from ΔA using mathematic function as logit/log or can be read from a graph using values of 6 levels of standards in the concentration range of 0 to 120 IU/ml RF. For zero value is recommended to use saline solution (0.9%)		

Measuring/reportable range:

3-120 IU/ml
Determine samples having higher activities via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute the samples with 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1 + 1). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. factor 2).

Expected values:

< 30 IU/ml

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patients' population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the rheumatoid factor results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 2.4 IU/ml
The low detection limit represents the lowest measurable RF concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility within run was determined using controls (n = 21). The following results were obtained:

Sample	Within run		
	Mean IU/ml	SD IU/ml	CV %
Sample 1	24.7	0.57	2.30
Sample 2	60.5	0.52	0.85

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol (n = 20). The following results were obtained:

Sample	Between day		
	Mean IU/ml	SD IU/ml	CV %
Sample 1	17.8	0.44	2.49
Sample 2	52.4	0.83	1.59
Sample 3	94.7	1.13	1.19
Sample 4	134.8	1.82	1.35

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex RF (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 55 samples the following result:
 $y = 0.972 x - 0.951; \quad r = 0.998$

Turbitex® RF

RHEUMATOID FACTOR



Quality Control:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662
Contronorm® ARC	2 x 1 ml	#7562
Controptath® ARC	2 x 1 ml	#7561

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardization: The rheumatoid factor method was standardized using the WHO Standard 64/2.

S1: 0.9% NaCl		
S2-6: Bio Cal® RF set	5 x 1 ml	#14870

Calibration frequency

Full calibration is recommended:

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-324
2. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Biochem* 1988; 26:783-790
3. Bampton JL, Cawston TE, Kyle MV, Hateleman BL. *Ann Rheum Dis* 1985;44:379-383
4. Bartfield H. Distribution of rheumatoid factor activity in non-rheumatoid states. *Ann NY Acad Sci* 1969;168:30-40
5. Borque L, Barozzi D, Ferrari L et al. The determination of Rheumatoid Factors by an immunoturbidimetric assay on Boehringer Mannheim/Hitachi analysis Systems. *Klin Lab* 1994;40:445-453.
6. Borque L, Yago M, Mar C, Rodrigues C. *Clin Chem* 1986;32:24-129
7. Glinck MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474
8. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Broschüre in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
9. Heil W, Koberstein R, Zawta B. Reference Ranges for Adults and Children, Pre-Analytical Considerations (published by Roche 1997/98)
10. Jaspers JP, Van Oers RJM, Leerkes B. Nine Rheumatoid Factor Assays Compared. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:863-871
11. Koopmann WJ, Schrohenloker RE. *Arthritis Rheum* 1980;23:302-308
12. Moore TL, Dorner RN. Rheumatoid factors. *Clin Biochem* 1993;26:75-84
13. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21: 709-720
14. Roberts-Thomson PJ, Mc Evoy R, Langhans T, Bradley J. *Ann Rheum Dis* 1985;44:379-3383
15. Waaler E. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1940;17:172-178
16. Laborwerte verstehen. Maria Lohmann, 2. Auflage, Juni 2014

Bestellinformation:

Katalog Nr.	Inhalt
7581	R1 2 x 20 ml R2 1 x 15 ml
H8701 Hit I (ILab*)	R1 6 x 19 ml R2 6 x 7 ml
H8703 Hit 917 (AU*)	R1 4 x 56 ml R2 4 x 20 ml
AU8703 AU	R1 4 x 56 ml R2 4 x 20 ml

(*) Kit enthält nur Reagenzien Barcodes für Hitachi Systeme.

Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 017
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung der Rheumafaktoren in Humanserum und -plasma. RF-Bestimmungen können zur Diagnose der rheumatoiden Arthritis eingesetzt werden.

Zusammenfassung:

Rheumafaktoren sind eine heterogene Gruppe von Autoantikörpern, die gegen die antigenen Determinanten am Fc-Teil von IgG-Molekülen gerichtet sind. Sie sind wichtig zur Diagnose der rheumatoiden Arthritis, können aber auch bei anderen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen gefunden werden, ebenfalls bei verschiedenen nicht rheumatischen Erkrankungen und bei klinisch Gesunden jenseits des 60. Lebensjahrs. Ungeachtet der Einschränkungen stellt der Rheumafaktornachweis ein diagnostisches Kriterium zur Klassifizierung der rheumatoiden Arthritis des American College of Rheumatology dar. Diese Autoantikörper kommen in allen Immunglobulinklassen vor, die üblichen Methoden beschränken sich aber auf den Nachweis der Rheumafaktoren vom IgM-Typ.

Klassisch bestimmt werden die Rheumafaktoren über Agglutination mit IgG-sensibilisierten Schaferythrozyten oder Latexpartikeln. Spezifische Probleme dieser halbquantitativen Methoden sind die schlechte Präzision und Reproduzierbarkeit von Labor zu Labor sowie die Schwierigkeiten bei der Standardisierung. Deshalb wurden neue Bestimmungsmethoden wie Nephelometrie, Turbidimetrie, Enzymimmunoassays und Radioimmunoassays entwickelt. Der vorliegende RF-Test beruht auf dem Prinzip des immunologischen Agglutinationstests mit Reaktionsverstärkung durch Latexpartikel.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest mit Reaktionsverstärkung durch Latex. An Latex gebundenes hitzeinaktiviertes IgG (Antigen) reagiert mit den Antikörpern aus der Probe unter Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen, die nach Agglutination turbidimetrisch gemessen werden.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:
Glycin-Puffer pH 8,0 170 mmol/l
Zitronensäure 1,47 %
Konservierungsmittel

R2:
IgG-Latex
Latexpartikel, beladen mit humanem IgG; 0,17 %
Glycin-Puffer pH 7,3 170 mmol/l
Konservierungsmittel

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig. **Einmal wöchentlich Reagenz gut durchmischen.**
Bei +2°C bis +8°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.
Onboard Stabilität bei +2°C bis +8°C: R1 90 Tage
R2 90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen
Li-, Na-Heparin, EDTA- Plasma
Haltbarkeit: 24 Stunden bei +20°C bis +25°C
3 Tage bei +2°C bis +8°C
4 Wochen (nur einmal einfrieren) bei -20°C
Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ±10% vom Ausgangswert.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 60 (ca. 60 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1000 (ca. 1000mg/dl Hämoglobin).
Lipämie: Erhöhte Triglycerid-Konzentrationen können die Messwerte beeinflussen. Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglycerid-Konzentration.
Es wurde kein High-Dose-Hook-Effekt bis zu einer RF-Aktivität von 300 IU/ml festgestellt.
Bei 31 häufig verwendeten, in vitro getesteten Pharmaka konnte keine Störung des Tests festgestellt werden.
Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterialien
• NaCl-Lösung (0,9%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge: 570 nm
Temperatur: +37°C
Schichtdicke: 1 cm
Messung: gegen Reagenzienleerwert (RLW)

	RLW	Probe/ Kalibrator
Probe/ Kalibrator	---	30 µl
R1	900 µl	900 µl

Mischen. 5 Min. inkubieren, dann zufügen:

R2	300 µl	300 µl
----	--------	--------

Mischen, Extinktion E₁ nach 30 s ablesen.

5 Min. inkubieren und Extinktion E₂ ablesen.

Berechnung:

$$\Delta E = [(E_2 - E_1) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_2 - E_1) \text{ RLW}]$$

Die Konzentration von RF in Patientenseren sollte aus dem ΔE der Probe mit Hilfe eines mathematischen Modells wie logit/log berechnet oder aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Messergebnissen von 6 Standards für einen Kalibrationsbereich von 0 bis 120 IU/ml RF. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen.

Messbereich:

3 - 120 IU/ml

Proben mit höheren Aktivitäten werden über eine Rerun-Funktion bestimmt. Bei Geräten ohne Rerun-Funktion werden Proben mit höheren Aktivitäten manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt (z.B. 1 + 1). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z.B. Faktor 2).

Referenzbereich:

< 30 IU/ml

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Rheumafaktorergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Die untere Nachweisgrenze liegt bei 2,4 IU/ml.

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren RF-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit in Serie wurde mit Kontrollproben (n = 21) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	Mean IU/ml	SD IU/ml	CV %
Kontrolle 1	24,7	0,57	2,30
Kontrolle 2	60,5	0,52	0,85

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben gemäß einem internen Protokoll (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	Tag / Tag		
	MW IU/ml	SD IU/ml	VK %
Probe 1	17,8	0,44	2,49
Probe 2	52,4	0,83	1,59
Probe 3	94,7	1,13	1,19
Probe 4	134,8	1,82	1,35

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex RF (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 60 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 0,972 x - 0,951; \quad r = 0,998$$

Qualitätskontrolle:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662

Contronorm® ARC	2 x 1 ml	#7562
Controptath® ARC	2 x 1 ml	#7561

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, daß Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Standardisierung: Die RF- Methode wurde am WHO- Standard 64/2 abgeglichen.

S1: 0.9% NaCl

S2-6: Bio Cal RF Set 5 x 1 ml #14870

Kalibrationshäufigkeit

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- bei Chargenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al. The American Rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988;31:315-324
2. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
3. Bampton JL, Cawston TE, Kyle MV, Hazleman BL. Ann Rheum Dis 1985;44:379-383
4. Bartfield H. Disriburion of Rheumatoid factor activity in non-rheumatoid states. Ann NY Acad Sci 1969;168:30-40
5. Borque L, Yago M, Mar C, Rodriques C. Clin Chem 1986;32:24-129
6. Borque L, Barozzi D, Ferrari L et al. The Determination of Rheumatoid Factors by an Immunoturbidimetric Assay in Boehringer Mannheim/Hitachi Analysis Systems. Klein Lab 1994;40:445-453
7. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474
8. Guder WG, Narayanan S, Wisswe H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt. GIT Verlag 1996
9. Heil W, Koberstein R, Zawta B. Reference Ranges for Adults and Children, Pre-analytical Considerations (Hrsg Roche 2000)
10. Jaspers JP, Van Oers RJM, Leerkes B. Nine Rheumatoid Factor Assays Compared. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:863-871
11. Koopmann WJ, Schroenloker RE. Arthritis Rheum 1980;23:302-308
12. Moore TL, Dornier RN. Rheumatoid factors. Clin Biochem 1993;26:75.84
13. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
14. Roberts-Thompson PJ, McEvoy R, Langhans T, Bradley J. Ann Rheum Dis 1985;44:379-383
15. Waaler E. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. Acta Pathol Microbiol Scand 1940;17:172-178
16. Laborwerte verstehen. Maria Lohmann, 2. Auflage, Juni 2014