

**NovaLisa®**

# Rheumatoid Factor IgM

**ELISA**

**CE**

**Only for in-vitro diagnostic use**

**Instructions for use / Gebrauchsanweisung / Instrucciones de uso / Instruções de utilização**

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| English .....                                                                                                              | 2  |
| Deutsch .....                                                                                                              | 7  |
| Español .....                                                                                                              | 12 |
| Português .....                                                                                                            | 17 |
| Abbreviations / Abkürzungen / Abreviaciones / Abreviaturas .....                                                           | 22 |
| Packaging materials / Verpackungsmaterialien / Materiales de embalaje / Materiais de embalagem .....                       | 22 |
| Symbols Key / Symbolschlüssel / Símbolos / Tabela de símbolos .....                                                        | 23 |
| Summary of Test Procedure / Kurzanleitung Testdurchführung / Resumen de la técnica / Resumo do Procedimento de Teste ..... | 24 |

---

**REF**

**RFM3010 (96 Determinations)**

---

## ENGLISH

### 1. INTENDED USE

---

The Rheumatoid Factor IgM ELISA is intended for the quantitative determination of IgM rheumatoid factors in human serum or plasma (citrate, heparin).

### 2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

---

The quantitative immunoenzymatic determination of IgM rheumatoid factors is based on the ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) technique.

Microtiterplates are coated with Fc fragments of human immunoglobulin G (IgG) to bind corresponding antibodies of the sample. After washing the wells to remove all unbound sample material horseradish peroxidase (HRP) labelled anti-human IgM conjugate is added. This conjugate binds to the captured rheumatoid factors. In a second washing step unbound conjugate is removed. The immune complex formed by the bound conjugate is visualized by adding Tetramethylbenzidine (TMB) substrate which gives a blue reaction product. The intensity of this product is proportional to the amount of IgM rheumatoid factors in the sample. Sulphuric acid is added to stop the reaction. This produces a yellow endpoint colour. Absorbance at 450/620 nm is read using an ELISA Microtiterplate reader.

### 3. MATERIALS

---

#### 3.1. Reagents supplied

- **Microtiterplate:** 12 break apart 8-well snap-off strips coated with Fc fragments of human IgG; in resealable aluminium foil.
- **DIL:** 1 bottle containing 100 mL of phosphate buffer (10 mM) for sample dilution; pH 7.2 ± 0.2; coloured yellow; ready to use; white cap; ≤ 0.0015% (v/v) CMIT/ MIT (3:1).
- **SOLN STOP:** 1 bottle containing 15 mL sulphuric acid, 0.2 mol/L; ready to use; red cap.
- **WASH BUF 20x:** 1 bottle containing 50 mL of a 20-fold concentrated phosphate buffer (0.2 M), pH 7.2 ± 0.2, for washing the wells; white cap; 0.2% (w/v) 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane.
- **Conjugate:** 1 bottle containing 20 mL of peroxidase labelled antibody to human IgM in phosphate buffer (10 mM); coloured red; ready to use; black cap.
- **SUB TMB:** 1 bottle containing 15 mL 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB), < 0.1 %; ready to use; yellow cap.
- **Control Low:** 1 bottle containing 2 mL control solution; coloured yellow; blue cap; ≤ 0.02% (v/v) MIT.
- **Control High:** 1 bottle containing 2 mL control solution; coloured yellow; red cap; ≤ 0.02% (v/v) MIT.
- **Standards:** 6 vials, each containing 2 mL standard; coloured yellow; ready to use; yellow cap; ≤ 0.02% (v/v) MIT:

|             |     |       |
|-------------|-----|-------|
| Standard A: | 0   | IU/mL |
| Standard B: | 3   | IU/mL |
| Standard C: | 10  | IU/mL |
| Standard D: | 30  | IU/mL |
| Standard E: | 100 | IU/mL |
| Standard F: | 300 | IU/mL |

The standards are calibrated in accordance with the "Non WHO Reference Material; Rheumatoid Arthritis Serum, 1<sup>st</sup> British Standard"; NIBSC code 64/002.

For hazard and precautionary statements see 11.1.

#### 3.2. Materials supplied

- 1 Cover foil
- 1 Instructions for use (IFU)

#### 3.3. Materials and Equipment needed

- ELISA Microtiterplate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450/620 nm
- Incubator 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing Microtiterplates
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 µL
- Vortex tube mixer
- Distilled water
- Disposable tubes

### 4. STABILITY AND STORAGE

---

Store the kit at 2...8 °C. The opened reagents are stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2...8 °C.

### 5. REAGENT PREPARATION

---

It is very important to bring all reagents and samples to room temperature (20...25 °C) and mix them before starting the test run!

#### 5.1. Microtiterplate

The break-apart snap-off strips are coated with Fc fragments of human IgG. Immediately after removal of the strips, the remaining strips should be resealed in the aluminium foil along with the desiccant supplied and stored at 2...8 °C.

## 5.2. WASH BUF 20x

Dilute WASH BUF 20x 1 + 19; e. g. 10 mL WASH BUF 20x + 190 mL distilled water. The diluted buffer (WASH BUF 1x) is stable for 5 days at room temperature (20...25 °C). In case crystals appear in the concentrate, warm up the solution to 37 °C e.g., in a water bath. Mix well before dilution.

## 5.3. SUB TMB

The reagent is ready to use and has to be stored at 2...8 °C, away from the light. SUB TMB should be colourless or could have a slight blue tinge. If SUB TMB turns into blue, it may have become contaminated and should be thrown away.

## 6. SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Use human serum or plasma (citrate, heparin) samples with this assay. If the assay is performed within 5 days after sample collection, the samples should be kept at 2...8 °C; otherwise, they should be aliquoted and stored deep-frozen (-70...-20 °C). If samples are stored frozen, mix thawed samples well before testing. Avoid repeated freezing and thawing. Heat inactivation of samples is not recommended.

### 6.1. Sample Dilution

Before assaying, all samples should be diluted 1+100 with DIL. Dispense 10 µL sample and 1 mL DIL into tubes to obtain a 1+100 dilution and thoroughly mix with a Vortex.

## 7. ASSAY PROCEDURE

Please read the instructions for use carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the instructions for use as described. The following test procedure is only validated for manual procedure. If performing the test on ELISA automatic systems we recommend increasing the washing steps from three up to five and the volume of WASH BUF 1x from 300 µL to 350 µL to avoid washing effects. Pay attention to chapter 11. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all samples and standards/controls (duplicates recommended) should be carefully established. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Perform all assay steps in the order given and without any delays.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each standard/control and sample.

Adjust the incubator to 37 ± 1 °C.

1. Dispense 100 µL standards/controls and diluted samples into their respective wells. Leave well A1 for the Substrate Blank.
2. Cover wells with the foil supplied in the kit.
3. **Incubate for 30 min at 37 ± 1 °C.**
4. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content of the wells and wash each well three times with 300 µL of WASH BUF 1x. Avoid overflows from the reaction wells. The interval between washing and aspiration should be > 5 sec. At the end carefully remove remaining fluid by tapping strips on tissue paper prior to the next step!  
Note: Washing is important! Insufficient washing results in poor precision and false results.
5. Dispense 100 µL Conjugate into all wells except for the Substrate Blank well A1.
6. **Incubate for 30 min at room temperature (20...25 °C).** Do not expose to direct sunlight.
7. Repeat step 4.
8. Dispense 100 µL SUB TMB into all wells.
9. **Incubate for exactly 15 min at room temperature (20...25 °C) in the dark.** A blue colour occurs due to an enzymatic reaction.
10. Dispense 100 µL SOLN STOP into all wells in the same order and at the same rate as for SUB TMB, thereby a colour change from blue to yellow occurs.
11. Measure the absorbance at 450/620 nm within 30 min after addition of SOLN STOP.

### 7.1. Measurement

Adjust the ELISA Microtiterplate reader to zero using the **Substrate Blank**.

If - due to technical reasons - the ELISA Microtiterplate reader cannot be adjusted to zero using the Substrate Blank, subtract its absorbance value from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!

**Measure the absorbance** of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each standard/control and sample.

Bichromatic measurement using a reference wavelength of 620 nm is recommended.

**Where applicable calculate the mean absorbance values of all duplicates.**

## 8. RESULTS

### 8.1. Run Validation Criteria

In order for an assay run to be considered valid, these instructions for use have to be strictly followed and the following criteria must be met:

- **Substrate blank:** Absorbance value < 0.100
- **Standard A:** Absorbance value < 0.200
- **Standard B:** Absorbance value > Standard A
- **Standard C:** Absorbance value > Standard B
- **Standard D:** Absorbance value > 0.100
- **Standard E:** Absorbance value > 0.400
- **Standard F:** Absorbance value > 1.000
- **Control Low:** Result < 5 IU/mL
- **Control High:** Result > 20 IU/mL

**Standard A < Standard B < Standard C < Standard D < Standard E < Standard F**

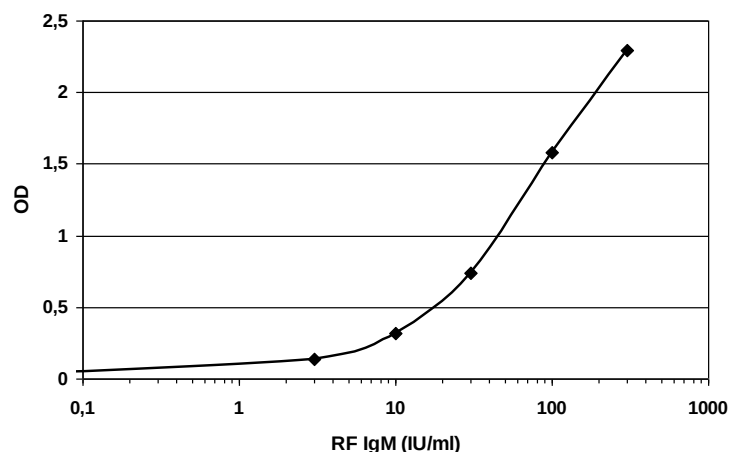
If these criteria are not met, the test is not valid and must be repeated.

### 8.2. Calculation of Results

In order to obtain **quantitative results in IU/mL** plot the (mean) absorbance values of the Standards A – F on (linear/logarithmic) graph paper in a system of coordinates against their corresponding concentrations and draw a standard calibration curve (absorbance values on the y-axis, concentrations on the x-axis).

Read results from this calibration curve employing the (mean) absorbance values of each patient sample and control.

### 8.3. Typical Calibration Curve



### 8.4. Interpretation of Results

|           |               |
|-----------|---------------|
| Elevated  | > 15 IU/mL    |
| Equivocal | 10 – 15 IU/mL |
| Normal    | < 10 IU/mL    |

Diagnosis of a disease should not be established on the basis of a single test result. A precise diagnosis should take into consideration clinical history, symptomatology as well as serological data.

In immunocompromised patients and newborns serological data only have restricted value.

## 9. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The results refer to the groups of samples investigated; these are not guaranteed specifications.

### 9.1. Precision

| Intraassay | n  | Mean (E)     | CV (%) |
|------------|----|--------------|--------|
| #1         | 24 | 1.170        | 1.0    |
| #2         | 24 | 0.216        | 2.0    |
| #3         | 24 | 2.127        | 2.1    |
| Interassay | n  | Mean (IU/mL) | CV (%) |
| #1         | 12 | 33.70        | 5.29   |
| #2         | 12 | 148.63       | 6.41   |
| #3         | 12 | 53.76        | 6.10   |

## 9.2. Diagnostic Specificity

The diagnostic specificity is defined as the probability of the assay of scoring negative in the absence of the specific analyte. It is 94.12% (95% confidence interval: 83.76% - 98.77%).

## 9.3. Diagnostic Sensitivity

The diagnostic sensitivity is defined as the probability of the assay of scoring positive in the presence of the specific analyte. It is 98.0% (95% confidence interval: 89.35% - 99.95%).

## 9.4. Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity (according to CLSI EP17-A) is defined as the apparent concentration of the analyte that can be distinguished from the zero calibrator. It is 0.08 IU/mL.

## 9.5. Interferences

Interferences with hemolytic, lipemic or icteric samples are not observed up to a concentration of 10 mg/mL hemoglobin, 5 mg/mL triglycerides and 0.5 mg/mL bilirubin.

## 9.6. Measurement range

The measurement range is 0.08 IU/mL - 300 IU/mL.

## 10. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the sample may affect the absorbance values.

## 11. PRECAUTIONS AND WARNINGS

- The test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use.
- All materials of human or animal origin should be regarded and handled as potentially infectious.
- All components of human origin used for the production of these reagents have been tested for anti-HIV antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg and have been found to be non-reactive.
- Do not interchange reagents or Microtiterplates of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and standard/control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense reagents without splashing accurately into the wells.
- The ELISA is only designed for qualified personnel following the standards of good laboratory practice (GLP).
- For further internal quality control each laboratory should additionally use known samples.

### 11.1. Safety note for reagents containing hazardous substances

Reagents may contain CMIT/MIT (3:1) or MIT (refer to 3.1).  
Therefore, the following hazard and precautionary statements apply.

|                                                                                     |                |           |                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----------|-------------------------------------------------------------------|
|  | <b>Warning</b> | H317      | May cause an allergic skin reaction.                              |
|                                                                                     |                | P261      | Avoid breathing spray.                                            |
|                                                                                     |                | P280      | Wear protective gloves/ protective clothing.                      |
|                                                                                     |                | P302+P352 | IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.                   |
|                                                                                     |                | P333+P313 | If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/ attention. |
|                                                                                     |                | P362+P364 | Take off contaminated clothing and wash it before reuse.          |

Reagents may contain 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane (refer to 3.1).  
Therefore, the following hazard and precautionary statements apply.

|                                                                                     |                |                |                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <b>Warning</b> | H315           | Causes skin irritation.                                                                                                          |
|                                                                                     |                | H319           | Causes serious eye irritation                                                                                                    |
|                                                                                     |                | P280           | Wear protective gloves/ protective clothing.                                                                                     |
|                                                                                     |                | P302+P352      | IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.                                                                                  |
|                                                                                     |                | P305+P351+P338 | IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. |
|                                                                                     |                | P337+P313      | If eye irritation persists: Get medical advice/attention.                                                                        |

Further information can be found in the safety data sheet.

## 11.2. Disposal Considerations

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

For information about the packaging materials refer to PACKAGING MATERIALS.

## 12. ORDERING INFORMATION

---

|     |         |                       |                     |
|-----|---------|-----------------------|---------------------|
| REF | RFM3010 | Rheumatoid Factor IgM | (96 Determinations) |
|-----|---------|-----------------------|---------------------|

## DEUTSCH

### 1. VERWENDUNGSZWECK

---

Der Rheumatoid Factor IgM ELISA ist für den quantitativen Nachweis von IgM Rheumafaktoren in humanem Serum oder Plasma (Citrat, Heparin) bestimmt.

### 2. TESTPRINZIP

---

Die quantitative immunenzymatische Bestimmung von IgM Rheumafaktoren beruht auf der ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) -Technik.

Die Mikrotiterplatten sind mit Fc-Fragmenten von humanem Immunglobulin G beschichtet, an welche die korrespondierenden Antikörper aus der Probe binden. Ungebundenes Probenmaterial wird durch Waschen entfernt. Anschließend erfolgt die Zugabe eines Meerrettich-Peroxidase (HRP) Konjugates. Dieses Konjugat bindet an die an der Mikrotiterplatte gebundenen spezifischen Antikörper. In einem zweiten Waschschrift wird ungebundenes Konjugat entfernt. Die Immunkomplexe, die durch die Bindung des Konjugates entstanden sind, werden durch die Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB)-Substratlösung und eine resultierende Blaufärbung nachgewiesen.

Die Intensität des Reaktionsproduktes ist proportional zur Menge der spezifischen Antikörper in der Probe. Die Reaktion wird mit Schwefelsäure gestoppt, wodurch ein Farbumschlag von blau nach gelb erfolgt. Die Absorption wird bei 450/620 nm mit einem Mikrotiterplatten-Photometer gemessen.

### 3. MATERIALIEN

---

#### 3.1. Mitgelieferte Reagenzien

- **Mikrotiterplatte:** 12 teilbare 8er-Streifen, beschichtet mit Fc-Fragmenten von humanem IgG; in wieder verschließbarem Aluminiumbeutel.
- **DIL:** 1 Flasche mit 100 mL Phosphatpuffer (10 mM) zur Probenverdünnung; pH 7,2 ± 0,2; gelb gefärbt; gebrauchsfertig; weiße Verschlusskappe; ≤ 0,0015% (v/v) CMIT/ MIT (3:1).
- **SOLN STOP:** 1 Flasche mit 15 mL Schwefelsäure, 0,2 mol/L; gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe.
- **WASH BUF 20x:** 1 Flasche mit 50 mL eines 20-fach konzentrierten Phosphatpuffers (0,2 M), zum Waschen der Kavitäten; pH 7,2 ± 0,2; weiße Verschlusskappe; 0,2% (w/v) 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan.
- **Konjugat:** 1 Flasche mit 20 mL Peroxidase-konjugierten Antikörpern gegen humanes IgM in Phosphatpuffer (10 mM); rot gefärbt; gebrauchsfertig; schwarze Verschlusskappe.
- **SUB TMB:** 1 Flasche mit 15 mL 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB), < 0,1 %; gebrauchsfertig; gelbe Verschlusskappe.
- **Kontrolle Niedrig:** 1 Fläschchen mit 2 mL Kontrolllösung; gelb gefärbt; blaue Verschlusskappe; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Kontrolle Hoch:** 1 Fläschchen mit 2 mL Kontrolllösung; gelb gefärbt; rote Verschlusskappe; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Standards:** 6 Fläschchen mit 2 mL Standardlösung; gelb gefärbt; gebrauchsfertig; gelbe Verschlusskappe; ≤ 0,02% (v/v) MIT.

|             |     |       |
|-------------|-----|-------|
| Standard A: | 0   | IU/mL |
| Standard B: | 3   | IU/mL |
| Standard C: | 10  | IU/mL |
| Standard D: | 30  | IU/mL |
| Standard E: | 100 | IU/mL |
| Standard F: | 300 | IU/mL |

Die Standards sind am „Non WHO Reference Material; Rheumatoid Arthritis Serum, 1<sup>st</sup> British Standard“ kalibriert; NIBSC Code 64/002.

Für Gefahren- und Sicherheitshinweise siehe 11.1.

#### 3.2. Mitgeliefertes Zubehör

- 1 selbstklebende Abdeckfolie
- 1 Gebrauchsanweisung

#### 3.3. Erforderliche Materialien und Geräte

- Mikrotiterplatten-Photometer mit Filtern 450/620 nm
- Inkubator 37 °C
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten
- Mikropipetten (10 - 1000 µL)
- Vortex-Mischer
- Destilliertes Wasser
- Plastikröhrchen für den einmaligen Gebrauch

### 4. STABILITÄT UND LAGERUNG

---

Testkit bei 2...8 °C lagern. Die geöffneten Reagenzien sind bis zu den auf den Etiketten angegebenen Verfallsdaten verwendbar, wenn sie bei 2...8 °C gelagert werden.

## 5. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Es ist sehr wichtig, alle Reagenzien und Proben vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur (20...25 °C) zu bringen und zu mischen!

### 5.1. Mikrotiterplatte

Die abbrechbaren Streifen sind mit Fc-Fragmenten von humanem IgG beschichtet. Nicht verbrauchte Vertiefungen im Aluminiumbeutel zusammen mit dem Trockenmittel sofort wieder verschließen und bei 2...8 °C lagern.

### 5.2. **WASH** **BUF** **20x**

**WASH** **BUF** **20x** ist im Verhältnis 1 + 19 zu verdünnen; z.B. 10 mL **WASH** **BUF** **20x** + 190 mL destilliertes Wasser. Der verdünnte Puffer (**WASH** **BUF** **1x**) ist bei Raumtemperatur (20...25 °C) 5 Tage haltbar. Sollten Kristalle im Konzentrat auftreten, die Lösung z.B. in einem Wasserbad auf 37 °C erwärmen und vor dem Verdünnen gut mischen.

### 5.3. **SUB** **TMB**

Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8 °C vor Licht geschützt aufzubewahren. **SUB** **TMB** ist farblos, kann aber auch leicht hellblau sein. Sollte **SUB** **TMB** blau sein, ist es kontaminiert und kann nicht im Test verwendet werden.

## 6. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Es sollten humane Serum- oder Plasmaproben (Citrat, Heparin) verwendet werden. Werden die Bestimmungen innerhalb von 5 Tagen nach Blutentnahme durchgeführt, können die Proben bei 2...8 °C aufbewahrt werden, sonst aliquotieren und tiefgefrieren (-70...-20 °C). Wieder aufgetaute Proben vor dem Verdünnen gut schütteln. Wiederholtes Tiefgefrieren und Auftauen vermeiden! Hitzeinaktivierung der Proben wird nicht empfohlen.

### 6.1. Probenverdünnung

Proben vor Testbeginn im Verhältnis 1 + 100 mit **DIL** verdünnen, z. B. 10 µL Probe und 1 mL **DIL** in die entsprechenden Röhrchen pipettieren, um eine Verdünnung von 1 + 100 zu erhalten; gut mischen (Vortex).

## 7. TESTDURCHFÜHRUNG

Gebrauchsanweisung **vor** Durchführung des Tests sorgfältig lesen. Für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse ist es notwendig, die Gebrauchsanweisung genau zu befolgen. Die folgende Testdurchführung ist für die manuelle Methode validiert. Beim Arbeiten mit ELISA Automaten empfehlen wir, um Wascheffekte auszuschließen, die Zahl der Waschschrte von drei auf bis zu fünf und das **WASH** **BUF** **1x** -Volumen von 300 µL auf 350 µL zu erhöhen. Kapitel 11 beachten. Vor Testbeginn die Verteilung bzw. Position der Proben und der Standards/Kontrollen (Doppelbestimmung empfohlen) genau festlegen. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen (Kavitäten) in den Streifenhalter einsetzen.

Den Test in der angegebenen Reihenfolge und ohne Verzögerung durchführen.

Für jeden Pipettierschritt der Standards/Kontrollen und Proben saubere Einmalspitzen verwenden.

Den Inkubator auf 37 ± 1 °C einstellen.

1. Je 100 µL Standards/Kontrollen und vorverdünnte Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. Vertiefung A1 ist für den Substratleerwert vorgesehen.
2. Die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie bedecken.
3. **30 min bei 37 ± 1 °C inkubieren.**
4. Am Ende der Inkubationszeit Abdeckfolie entfernen und die Inkubationsflüssigkeit aus den Teststreifen absaugen. Anschließend dreimal mit 300 µL **WASH** **BUF** **1x** waschen. Überfließen von Flüssigkeit aus den Vertiefungen vermeiden. Das Intervall zwischen Waschen und Absaugen sollte > 5 sec betragen. Nach dem Waschen die Teststreifen auf Fließpapier ausklopfen, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen.  
Beachte: Der Waschvorgang ist wichtig, da unzureichendes Waschen zu schlechter Präzision und falschen Messergebnissen führt!
5. 100 µL Konjugat in alle Vertiefungen, mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes A1 vorgesehenen, pipettieren.
6. **30 min bei Raumtemperatur (20...25 °C) inkubieren.** Nicht dem direkten Sonnenlicht aussetzen.
7. Waschvorgang gemäß Punkt 4 wiederholen.
8. 100 µL **SUB** **TMB** in alle Vertiefungen pipettieren.
9. **Genau 15 min im Dunkeln bei Raumtemperatur (20...25 °C) inkubieren.** Bei enzymatischer Reaktion findet eine Blaufärbung statt.
10. In alle Vertiefungen 100 µL **SOLN** **STOP** in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei der Zugabe von **SUB** **TMB** pipettieren, dadurch erfolgt ein Farbwechsel von blau nach gelb.
11. Die Extinktion der Lösung in jeder Vertiefung bei 450/620 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe von **SOLN** **STOP** messen.



## 7.1. Messung

Mit Hilfe des Substratleerwertes den **Nullabgleich** des Mikrotiterplatten-Photometers vornehmen.

Falls diese Eichung aus technischen Gründen nicht möglich ist, muss nach der Messung der Extinktionswert des Substratleerwertes von allen anderen Extinktionswerten subtrahiert werden, um einwandfreie Ergebnisse zu erzielen!

**Extinktion** aller Kavitäten bei **450 nm** messen und die Messwerte der Standards/Kontrollen und Proben notieren.

Eine **bichromatische** Messung mit der Referenzwellenlänge 620 nm wird empfohlen.

Falls Doppel- oder Mehrfachbestimmungen durchgeführt wurden, den **Mittelwert der Extinktionswerte** berechnen.

## 8. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

### 8.1. Testgültigkeitskriterien

Damit ein Testlauf als valide betrachtet werden kann, muss diese Gebrauchsanweisung strikt befolgt werden, und die folgenden Kriterien müssen erfüllt sein:

- **Substrat-Leerwert:** Extinktionswert < 0,100
- **Standard A:** Extinktionswert < 0,200
- **Standard B:** Extinktionswert > Standard A
- **Standard C:** Extinktionswert > Standard B
- **Standard D:** Extinktionswert > 0,100
- **Standard E:** Extinktionswert > 0,400
- **Standard F:** Extinktionswert > 1,000
- **Kontrolle Niedrig:** Ergebnis < 5 IU/mL
- **Kontrolle Hoch:** Ergebnis > 20 IU/mL

**Standard A < Standard B < Standard C < Standard D < Standard E < Standard F**

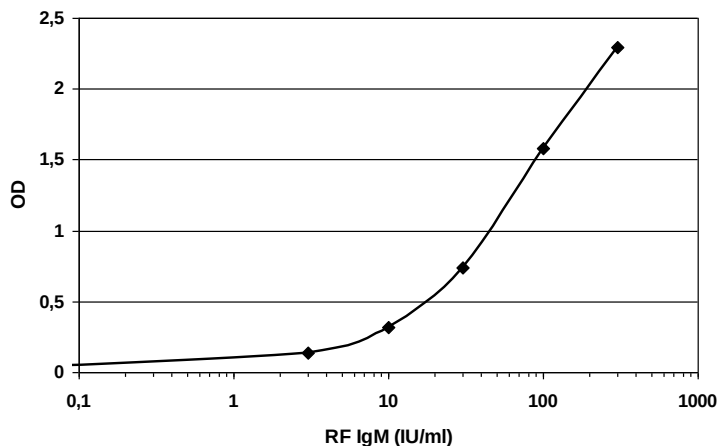
Sind diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Testlauf ungültig und muss wiederholt werden.

### 8.2. Messwertberechnung

Um **quantitative Ergebnisse in IU/mL** zu erhalten, werden die OD-Mittelwerte der Standards A - F auf der y-Achse (linear) gegen die entsprechenden Konzentrationen (x-Achse, logarithmisch) aufgetragen.

Anhand dieser Standardkurve lassen sich die Ergebnisse der (gemittelten) Extinktionswerte der jeweiligen Patientenproben und Kontrollen ablesen.

### 8.3. Typische Standardkurve



### 8.4. Interpretation der Ergebnisse

|             |               |
|-------------|---------------|
| Erhöht      | > 15 IU/mL    |
| Grenzwertig | 10 – 15 IU/mL |
| Normal      | < 10 IU/mL    |

Die Diagnose einer Krankheit darf nicht allein auf der Basis des Ergebnisses einer Bestimmung gestellt werden. Die anamnestischen Daten sowie die Symptomatologie des Patienten müssen zusätzlich zu den serologischen Ergebnissen in Betracht gezogen werden.

Bei Immunsupprimierten und Neugeborenen besitzen die Ergebnisse serologischer Tests nur einen begrenzten Wert.

## 9. TESTMERKMALE

Die Ergebnisse beziehen sich auf die untersuchten Probenkollektive; es handelt sich nicht um garantierte Spezifikationen.

### 9.1. Präzision

| Intraassay | n  | Mittelwert (E)     | Vk (%) |
|------------|----|--------------------|--------|
| #1         | 24 | 1,170              | 1,0    |
| #2         | 24 | 0,216              | 2,0    |
| #3         | 24 | 2,127              | 2,1    |
| Interassay | n  | Mittelwert (IU/mL) | Vk (%) |
| #1         | 12 | 33,70              | 5,29   |
| #2         | 12 | 148,63             | 6,41   |
| #3         | 12 | 53,76              | 6,10   |

### 9.2. Diagnostische Spezifität

Die diagnostische Spezifität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein negatives Ergebnis bei Fehlen des spezifischen Analyten zu liefern. Sie beträgt 94,12% (95% Konfidenzintervall: 83,76% - 98,77%).

### 9.3. Diagnostische Sensitivität

Die diagnostische Sensitivität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein positives Ergebnis bei Vorhandensein des spezifischen Analyten zu liefern. Sie ist 98,0% (95% Konfidenzintervall: 89,35% - 99,95%).

### 9.4. Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität des Tests (gemäß CLSI EP17-A) ist definiert als die kleinste Konzentration, die vom Nullstandard unterschieden werden kann. Sie ist 0,08 IU/mL.

### 9.5. Interferenzen

Hämolytische, lipämische und ikterische Proben ergaben bis zu einer Konzentration von 10 mg/mL Hämoglobin, 5 mg/mL Triglyceride und 0,5 mg/mL Bilirubin keine Interferenzen im vorliegenden ELISA.

### 9.6. Messbereich

Der Messbereich ist 0,08 IU/mL - 300 IU/mL.

## 10. GRENZEN DES VERFAHRENS

Kontamination der Proben durch Bakterien oder wiederholtes Einfrieren und Auftauen können zu einer Veränderung der Messwerte führen.

## 11. SICHERHEITSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Die Testdurchführung, die Information, die Sicherheitsmaßnahmen und Warnhinweise in der Gebrauchsanweisung sind strikt zu befolgen. Bei Anwendung des Testkits auf Diagnostika-Geräten ist die Testmethode zu validieren. Jede Änderung am Aussehen, der Zusammensetzung und der Testdurchführung sowie jede Verwendung in Kombination mit anderen Produkten, die der Hersteller nicht autorisiert hat, ist nicht zulässig; der Anwender ist für solche Änderungen selbst verantwortlich. Der Hersteller haftet für falsche Ergebnisse und Vorkommnisse aus solchen Gründen nicht. Auch für falsche Ergebnisse aufgrund von visueller Auswertung wird keine Haftung übernommen.
- Nur für in-vitro-Diagnostik.
- Alle Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs sind als potentiell infektiös anzusehen und entsprechend zu behandeln.
- Alle verwendeten Bestandteile menschlichen Ursprungs sind auf Anti-HIV-AK, Anti-HCV-AK und HBsAg nicht-reaktiv getestet.
- Reagenzien und Mikrotiterplatten unterschiedlicher Chargen nicht untereinander austauschen.
- Keine Reagenzien anderer Hersteller zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwenden.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Nur saubere Pipettenspitzen, Dispenser und Labormaterialien verwenden.
- Verschlusskappen der einzelnen Reagenzien nicht untereinander vertauschen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Flaschen sofort nach Gebrauch fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- Nach dem ersten Öffnen Konjugat und Standards/Kontrollen vor weiterem Gebrauch auf mikrobielle Kontamination prüfen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontamination und falsch erhöhten Resultaten, Reagenzien sorgfältig in die Kavitäten pipettieren.
- Der ELISA ist nur für qualifiziertes Personal bestimmt, das den Standards der Guten Laborpraxis (GLP) folgt.
- Zur weiteren internen Qualitätskontrolle sollte jedes Labor zusätzlich bekannte Proben verwenden.

### 11.1. Sicherheitshinweis für Reagenzien, die Gefahrstoffe enthalten

Die Reagenzien können CMIT/MIT (3:1) oder MIT enthalten (siehe 3.1).  
Daher gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise.

#### Achtung



|           |                                                                                        |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| H317      | Kann allergische Hautreaktionen verursachen.                                           |
| P261      | Einatmen von Aerosol vermeiden.                                                        |
| P280      | Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung tragen.                                               |
| P302+P352 | BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Seife und Wasser waschen.                         |
| P333+P313 | Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen. |
| P362+P364 | Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.                      |

Die Reagenzien können 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan enthalten (siehe 3.1).  
Daher gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise.

#### Achtung



|                |                                                                                                                                                                |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| H315           | Verursacht Hautreizungen.                                                                                                                                      |
| H319           | Verursacht schwere Augenreizung.                                                                                                                               |
| P280           | Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung tragen.                                                                                                                       |
| P302+P352      | BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Seife und Wasser waschen.                                                                                                 |
| P305+P351+P338 | BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. |
| P337+P313      | Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.                                                                             |

Weitere Informationen können dem Sicherheitsdatenblatt entnommen werden

### 11.2. Entsorgungshinweise

Rückstände von Chemikalien und Zubereitungen werden im Allgemeinen als gefährliche Abfälle betrachtet. Die Entsorgung dieser Art von Abfällen wird durch nationale und regionale Gesetze und Vorschriften geregelt. Wenden Sie sich an Ihre örtlichen Behörden oder an Abfallentsorgungsunternehmen, die Sie über die Entsorgung von Sondermüll beraten.

Informationen zu den Verpackungsmaterialien finden Sie unter VERPACKUNGSMATERIALIEN.

## 12. BESTELLINFORMATIONEN

---

|     |         |                       |                   |
|-----|---------|-----------------------|-------------------|
| REF | RFM3010 | Rheumatoid Factor IgM | (96 Bestimmungen) |
|-----|---------|-----------------------|-------------------|

## ESPAÑOL

### 1. USO PREVISTO

El ensayo de inmunoenzimático Rheumatoid Factor IgM ELISA se utiliza para la determinación cuantitativa de IgM Factor Reumatoideo en suero o plasma (citrato, heparina) humano.

### 2. PRINCIPIO DEL ENSAYO

La determinación inmunoenzimática cuantitativa de IgM Factor Reumatoideo se basa en la técnica ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

Las Placas de Microtitulación están recubiertas con FC fragmentos de inmunoglobulina humana G (IgG) que se unen a los anticuerpos de la muestra. Después de lavar los pocillos para eliminar todo el material de muestra no unido, el conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) se añade. Este conjugado se une a los anticuerpos capturados. En una segunda etapa de lavado se retira el conjugado no unido. El complejo inmune formado por el conjugado unido se visualizó añadiendo sustrato tetrametilbencidina (TMB), que da un producto de reacción azul.

La intensidad de este producto es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos en la muestra. Se añade ácido sulfúrico para detener la reacción. Esto produce un cambio de color de azul a amarillo. La extinción a 450/620 nm se mide con un fotómetro de Placa de Microtitulación ELISA.

### 3. MATERIALES

#### 3.1. Reactivos suministrados

- **Placa de Microtitulación:** 12 tiras de 8 pocillos rompibles, recubiertas con FC fragmentos de IgG humana, en bolsa de aluminio.
- **DIL:** 1 botella de 100 mL de solución de tampón de fosfato (10 mM) para diluir la muestra; pH 7,2 ± 0,2; color amarillo; listo para ser utilizado; tapa blanca; ≤ 0,0015% (v/v) CMIT/ MIT (3:1).
- **SOLN STOP:** 1 botella de 15 mL de ácido sulfúrico, 0,2 mol/L, listo para ser utilizado; tapa roja.
- **WASH BUF 20x:** 1 botella de 50 mL de una solución de tampón de fosfato 20x concentrado (0,2 M) para lavar los pocillos; pH 7,2 ± 0,2; tapa blanca; 0,2% (w/v) 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano.
- **Conjugado:** 1 botella de 20 mL de conjugado de anticuerpos IgM anti-humano con peroxidasa; color rojo; tapa negra; listo para ser utilizado.
- **SUB TMB:** 1 botella de 15 mL 3,3',5,5'-tetrametilbenzindina (TMB), < 0,1 % listo para ser utilizado; tapa amarilla.
- **Control Bajo:** 1 botella de 2 mL control; color amarillo; tapa azul; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Control Alto:** 1 botella de 2 mL control; color amarillo; tapa roja; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Estándares:** 6 botellas de 2 mL calibradores, color amarillo, listas para ser utilizadas, tapa amarilla; ≤ 0,02% (v/v) MIT.

|             |     |       |
|-------------|-----|-------|
| Estándar A: | 0   | IU/mL |
| Estándar B: | 3   | IU/mL |
| Estándar C: | 10  | IU/mL |
| Estándar D: | 30  | IU/mL |
| Estándar E: | 100 | IU/mL |
| Estándar F: | 300 | IU/mL |

Los Calibradores se calibran de acuerdo con la norma británica "Non WHO Reference Material; Rheumatoid Arthritis Serum, 1<sup>st</sup> British Standard"; NIBSC code 64/002.

Para indicaciones de peligro y consejos de prudencia consulte el cap. 11.1.

#### 3.2. Accesorios suministrados

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 instrucciones de uso

#### 3.3. Materiales e instrumentos necesarios

- Fotómetro de Placa de Microtitulación con filtros de 450/620 nm
- Incubadora 37 °C
- Dispositivo de lavado manual o automático de Placas de Microtitulación
- Micropipetas para uso de (10-1000 µL)
- Mezcladora Vortex
- Agua destilada
- Tubos de plástico desechables

### 4. ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

Almacene el kit a 2...8 °C. Los reactivos abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se almacena a 2...8 °C.

### 5. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

¡Es muy importante llevar todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (20...25 °C) y mezclarlos antes de ser utilizados!

## 5.1. Placa de Microtitulación

Las tiras rompibles están recubiertas con con FC fragmentos de IgG humana. Inmediatamente después de la eliminación de las tiras, las tiras restantes deben sellarse de nuevo en el papel de aluminio junto con la bolsita de dióxido de silicio y almacenar a 2...8 °C.

## 5.2. WASH BUF 20x

Diluir WASH BUF 20x 1+19; por ejemplo 10 mL WASH BUF 20x + 190 mL de agua destilada. El Tampón diluido (WASH BUF 1x) es estable durante 5 días a temperatura ambiente (20...25 °C). En caso de aparecer cristales en el concentrado, calentar la solución a 37 °C, por ejemplo, en un baño María. Mezclar bien antes de la dilución.

## 5.3. SUB TMB

La solución está lista para su uso y debe almacenarse a 2...8 °C, protegida de la luz. SUB TMB debe ser incolora o podría tener un color ligeramente azul claro. Si SUB TMB se convierte en azul, es posible que haya sido contaminado y no puede ser utilizado en el ensayo.

## 6. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Usar muestras de suero o plasma (citrato, heparina) humano. Si el ensayo se realiza dentro de 5 días después de la toma de sangre, las muestras pueden ser almacenadas a 2...8 °C, en caso contrario deben ser alicuotadas y almacenadas congeladas (-70...-20 °C). Agitar bien las muestras descongeladas antes de diluirlas. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas. No se recomienda la inactivación por calor de las muestras.

### 6.1. Dilución de las Muestras

Antes del ensayo, las muestras tienen que estar diluidas en relación 1 + 100 con DIL, por ejemplo 10 µL de la muestra con 1 mL DIL, mezclar bien con la mezcladora Vortex.

## 7. PROCEDIMIENTO

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones de uso del ensayo **antes** de realizarlo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. El siguiente procedimiento es válido solamente para el método manual. Si se realiza el ensayo en los sistemas automáticos de ELISA es aconsejable elevar el número de lavados de tres hasta cinco veces y el volumen de WASH BUF 1x de 300 µL a 350 µL para excluir efectos de lavado. Preste atención al capítulo 11 Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los estándares/controles (se recomienda determinar en duplicado). Usar la cantidad necesaria de tiras o pocillos e insertarlos en el soporte.

Realizar el ensayo en el orden indicado y sin retraso.

Para cada paso de pipeteado en los estándares/controles y en las muestras, usar siempre puntas de pipeta de un solo uso.

Graduar la incubadora a 37 ± 1 °C.

1. Pipetear 100 µL de estándares/controles y muestras en los pocillos respectivos. Dejar el pocillo A1 para el blanco.
2. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
3. **Incubar 30 min a 37 ± 1 °C.**
4. Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla tres veces con 300 µL WASH BUF 1x. Evitar el rebosamiento de los pocillos. El intervalo entre lavado y aspiración debe ser > 5 segundos. Para sacar el líquido restante de las tiras, es conveniente sacudirlas sobre papel absorbente.  
Nota: ¡El lavado es muy importante! ¡Un mal lavado insuficiente provoca una baja precisión y resultados falsamente elevados!
5. Pipetear 100 µL de conjugado en cada pocillo con excepción del blanco sustrato A1.
6. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente (20...25 °C).** Evitar la luz solar directa.
7. Repetir el lavado como en el paso número 4.
8. Pipetear 100 µL SUB TMB en todos los pocillos.
9. **Incubar exactamente 15 min en oscuridad a temperatura ambiente (20...25 °C).** Un color azul se produce en las muestras positivas debido a la reacción enzimática.
10. Pipetear en todos los pocillos 100 µL de SOLN STOP en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con SUB TMB, por lo tanto un cambio de color de azul a amarillo se produce.
11. Medir la extinción con 450/620 nm en un periodo de 30 min después de añadir SOLN STOP.

### 7.1. Medición

Ajustar el fotómetro de Placa de Microtitulación ELISA al cero utilizando el Blanco.

¡Si por razones técnicas el fotómetro de Placa de Microtitulación de ELISA no se puede ajustar a cero utilizando el Blanco, el valor de la absorbancia de este debe ser sustraído de los demás valores de absorbancia medidos con el fin de obtener resultados fiables!

Medir la **extinción** de todos los pocillos con **450 nm** y anotar los resultados de los estándares/controles y de las muestras.

Es aconsejable realizar la medición **bicromática** a una longitud de onda de referencia de 620 nm.

Si se efectuaron análisis en duplicado o múltiples, hay que calcular **el promedio de los valores de extinción** de los pocillos correspondientes.

## 8. CÁLCULO DOS RESULTADOS

### 8.1. Criterios de validez del ensayo

Para que un ensayo se considere válido, deben seguirse estrictamente las presentes instrucciones de uso y deben cumplirse los siguientes criterios:

- **Blanco del sustrato:** valor de la extinción < 0,100
- **Estándar A:** valor de la extinción < 0,200
- **Estándar B:** valor de la extinción > Estándar A
- **Estándar C:** valor de la extinción > Estándar B
- **Estándar D:** valor de la extinción > 0,100
- **Estándar E:** valor de la extinción > 0,400
- **Estándar F:** valor de la extinción > 1,000
- **Control Bajo:** Resultado < 5 IU/mL
- **Control Alto:** Resultado > 20 IU/mL

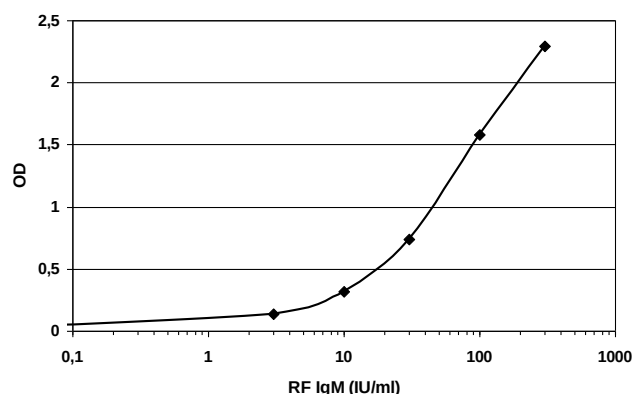
**Estándar A < Estándar B < Estándar C < Estándar D < Estándar E < Estándar F**

Si estos criterios no se cumplen la prueba no es válida y deberá repetirse.

### 8.2. Cálculo dos resultados

Con el fin de obtener resultados cuantitativos en IU/mL la media de los valores de la extinción de los estándares A - F (eje Y) en papel cuadrado se interpola contra de sus correspondientes concentraciones (eje X), y se dibuje una curva de calibración. Lea los resultados de esta curva empleando los valores de la extinción (media) de cada muestra de paciente e controls.

### 8.3. Curva típica de calibración



### 8.4. Interpretación dos Resultados

|                 |               |
|-----------------|---------------|
| Elevado         | > 15 IU/mL    |
| Zona intermedia | 10 – 15 IU/mL |
| Normal          | < 10 IU/mL    |

El diagnóstico de una enfermedad no solamente se debe basar en el resultado del ensayo. Es necesario considerar la anamnesis y la sintomatología del paciente junto al resultado serológico.

Estos resultados sólo tienen valor restringido en pacientes inmunodeprimidos o en neonatos.

## 9. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

Los resultados están basados en el grupo de pruebas investigado; no se trata de especificaciones garantizadas.

### 9.1. Precisión

| Intra ensayo | n  | Promedio (E)     | CV(%) |
|--------------|----|------------------|-------|
| #1           | 24 | 1,170            | 1,0   |
| #2           | 24 | 0,216            | 2,0   |
| #3           | 24 | 2,127            | 2,1   |
| Inter ensayo | n  | Promedio (IU/mL) | CV(%) |
| #1           | 12 | 33,70            | 5,29  |
| #2           | 12 | 148,63           | 6,41  |
| #3           | 12 | 53,76            | 6,10  |

### 9.2. Especificad diagnóstica

La especificidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado negativo en ausencia del analítico específico. Es 94,12% (95% Intervalo de confianza: 83,76% - 98,77%).

### 9.3. Sensibilidad de diagnóstico

La sensibilidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado positivo en presencia del analítico específico. Es 98,0% (95% Intervalo de confianza: 89,35% - 99,95%).

### 9.4. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (según CLSI EP17-A) se define como la menor concentración que se puede distinguir del estándar cero. Es de 0,08 IU/mL.

### 9.5. Interferencias

Interferencias con sueros hemolíticos, lipémicos o ictericos no se observan hasta una concentración de 10 mg/mL de hemoglobina, 5 mg/mL de triglicéridos y 0,5 mg/mL de bilirrubina.

### 9.6. Intervalo de medición

El intervalo de medición es 0,08 IU/mL - 300 IU/mL.

## 10. LIMITACIONES DEL ENSAYO

A contaminação bacteriana ou repetidos ciclos de congelamento e descongelamento da amostra pode afetar os valores de absorbância.

## 11. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- El procedimiento, la información, las precauciones y los avisos de las instrucciones de uso han de ser seguidas estrictamente. La utilización de equipos con analizadores y equipamiento similar tiene que ser validada. No se autorizan cambios en el diseño, composición y procedimiento, así como cualquier utilización en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario debe hacerse responsable de estos cambios. El fabricante no responderá ante falsos resultados e incidentes debidos a estas razones. El fabricante no responderá ante cualquier resultado por análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Solo para diagnostico in vitro.
- Todos los materiales de origen humano o animal deberán ser considerados y tratados como potencialmente infecciosos.
- Todos los componentes de origen humano han sido examinados y resultaron no reactivos a anticuerpos contra el VIH, VHC y HbsAG.
- No intercambiar reactivos y Placa de Microtitulación de cargas diferentes.
- No usar reactivos de otro fabricante para este ensayo.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Sólo usar recambios de pipetas, dispensadores y materiales de laboratorio limpios.
- No intercambiar las tapas de los diferentes reactivos, para evitar la contaminación cruzada.
- Para evitar la evaporación y una contaminación microbiana, cierre inmediatamente las botellas después de usarlas.
- Después de abrirlas y posterior almacenaje, asegurarse de que no existe contaminación microbiana antes de seguir usándolas.
- Para evitar contaminaciones cruzadas y resultados erróneamente aumentados, Pipetear cuidadosamente las muestras y los reactivos en los pocillos sin salpicar.
- El ELISA sólo está diseñado para personal cualificado siguiendo las normas de buenas prácticas de laboratorio (Good Laboratory Practice, GLP).
- Para un mayor control de calidad interno, cada laboratorio deberá utilizar además muestras conocidas.

### 11.1. Nota de seguridad para los reactivos que contienen sustancias peligrosas

Los reactivos pueden contener CMIT/MIT (3:1) o MIT (consulte el cap. 3.1)

Por lo tanto, se aplican las indicaciones de peligro y consejos de prudencia.

#### Atención



|           |                                                                       |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------|
| H317      | Puede provocar una reacción alérgica en la piel.                      |
| P261      | Evitar respirar el aerosol.                                           |
| P280      | Llevar guantes/ prendas de protección.                                |
| P302+P352 | EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante jabón agua.      |
| P333+P313 | En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.      |
| P362+P364 | Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. |

Los reactivos pueden contener 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano (consulte el cap. 3.1).

Por lo tanto, se aplican las indicaciones de peligro y consejos de prudencia.

#### Atención



|                |                                                                                                                                                                      |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| H315           | Provoca irritación cutánea.                                                                                                                                          |
| H319           | Provoca irritación ocular grave.                                                                                                                                     |
| P280           | Llevar guantes/ prendas de protección.                                                                                                                               |
| P302+P352      | EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante jabón agua.                                                                                                     |
| P305+P351+P338 | EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. |
| P337+P313      | Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.                                                                                                             |

Se puede encontrar más información en la ficha de datos de seguridad.

### 11.2. Indicaciones para la eliminación de residuos

Los residuos de productos químicos y preparados se consideran generalmente como residuos peligrosos. La eliminación de este tipo de residuos está regulada por leyes y reglamentos nacionales y regionales. Póngase en contacto con las autoridades locales o con las empresas de gestión de residuos, que le asesorarán sobre cómo eliminar los residuos peligrosos.

Para obtener información sobre los materiales de embalaje, consulte MATERIALES DE EMBALAJE.

### 12. INFORMACIONES PARA PEDIDOS

---

|     |         |                       |                      |
|-----|---------|-----------------------|----------------------|
| REF | RFM3010 | Rheumatoid Factor IgM | (96 Determinaciones) |
|-----|---------|-----------------------|----------------------|



## PORTUGUÊS

### 1. UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

---

O kit Rheumatoid Factor IgM ELISA destina-se à determinação quantitativa do Fator reumatoide IgM no soro ou plasma (citrato, heparina) humanos.

### 2. PRINCÍPIO DO ENSAIO

---

A determinação imunoenzimática quantitativa de Fator Reumatoide IgM é baseado na técnica de ELISA (do inglês Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

As Placas de Microtitulação são revestidas com fragmentos Fc da IgG que se ligam os anticorpos correspondentes da amostra. Após lavagem dos poços, para remover todo o material de amostra não ligado, um conjugado de IgM anti-humano com peroxidase de rábano (HRP) é adicionado. Este conjugado se liga aos factores reumatóides capturados. Num segundo passo de lavagem o conjugado não ligado é removido. O complexo imune formado pelo conjugado ligado é visualizado por adição de substrato de tetrametilbenzidina (TMB), o que dá um produto de reacção azul.

A intensidade deste produto é proporcional à quantidade de anticorpos específicos da amostra. O ácido sulfúrico é adicionado para parar a reacção. Isso produz uma mudança de cor de azul para amarelo. Absorvância a 450/620 nm é lida utilizando um fotômetro de Placa de Microtitulação ELISA.

### 3. MATERIAIS

---

#### 3.1. Reagentes fornecidos

- **Placa de Microtitulação:** 12 tiras de 8 poços, destacáveis e quebráveis, revestidas com fragmentos Fc da IgG, em bolsas de folha de alumínio com fecho.
- **DIL:** 1 frasco contendo 100 mL de tampão fosfato (10 mM) para diluição da amostra, pH 7,2 ± 0,2; de cor amarela; pronto a usar; tampa branca; ≤ 0,0015% (v/v) CMIT/ MIT (3:1).
- **SOLN STOP:** 1 frasco contendo 15 mL ácido sulfúrico; 0,2 mol/L; pronto a usar; tampa vermelha.
- **WASH BUF 20x:** 1 frasco contendo 50 mL de um tampão fosfato (0,2 M); concentrado 20 vezes (pH 7,2 ± 0,2) para a lavagem dos poços; tampa branca; 0,2% (w/v) 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano.
- **Conjugado:** 1 frasco contendo 20 mL de anticorpo para IgM anti-humano marcados com peroxidase no tampão fosfato (10 mM); de cor vermelha, pronto a usar; tampa preta.
- **SUB TMB:** 1 frasco contendo 15 mL de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB), < 0,1 %; pronto a usar; tampa amarela.
- **Controle Baixo:** 1 frasco contendo 2 mL controle; de cor amarela; tampa azul; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Controle Alto:** 1 frasco contendo 2 mL controle; de cor amarela; tampa vermelha; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Calibradores:** 6 frascos, contendo 2 mL cada, de cor amarela; pronto a usar, tampas amarelas; ≤ 0,02% (v/v) MIT.

|               |     |       |
|---------------|-----|-------|
| Calibrador A: | 0   | IU/mL |
| Calibrador B: | 3   | IU/mL |
| Calibrador C: | 10  | IU/mL |
| Calibrador D: | 30  | IU/mL |
| Calibrador E: | 100 | IU/mL |
| Calibrador F: | 300 | IU/mL |

Os Calibradores se calibram de acordo com la norma britânica, "Non WHO Reference Material; Rheumatoid Arthritis Serum, 1<sup>st</sup> British Standard"; NIBSC code 64/002.

Para advertências de perigo e recomendações de prudência ver capítulo 11.1.

#### 3.2. Materiais fornecidos

- 1 Película de cobertura
- 1 Instruções de utilização

#### 3.3. Materiais e Equipamento necessários

- Fotômetro de Placa de Microtitulações ELISA, equipado para a medição da absorvância a 450/620 nm
- Incubadora 37 °C
- Equipamento manual ou automático para a lavagem dos Placas de Microtitulação
- Pipetas para dispensar volumes entre 10 e 1000 µL
- Agitador de tubos tipo Vortex
- Água destilada
- Tubos descartáveis

### 4. ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO

---

Armazene o kit a 2...8 °C. Os reagentes abertos são estáveis até o prazo de validade impresso no rótulo quando armazenado a 2...8 °C.

### 5. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

---

É muito importante deixar todos os reagentes e amostras estabilizar à temperatura ambiente (20...25 °C) misturá-los antes de iniciar o teste!

### 5.1. Placa de Microtitulação

As tiras quebráveis são revestidas com fragmentos Fc da IgG. Imediatamente após a remoção das tiras necessárias, as tiras restantes devem ser lacradas de novo na folha de alumínio juntamente com o saquinho de silício fornecido e armazenadas a 2...8 °C.

### 5.2. WASH BUF 20x

Diluir WASH BUF 20x 1+19; por exemplo. 10 mL WASH BUF 20x + 190 mL de água destilada. O Tampão diluído (WASH BUF 1x) é estável durante 5 dias à temperatura ambiente (20...25 °C). Caso apareça cristais no concentrado, aquecer a solução a 37 °C por exemplo, em banho Maria. Misture bem antes da diluição.

### 5.3. SUB TMB

A Solução está pronta para uso e tem de ser armazenada à 2...8 °C, protegida da luz. SUB TMB deve ser incolor ou poderia ter uma ligeira coloração azul claro. Se SUB TMB se transforma em azul, pode ter sido contaminado e não pode ser usado no teste.

## 6. COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Usar com este ensaio amostras de soro ou plasma (citrato, heparina) humanos. Se o ensaio for realizado dentro de 5 dias após colheita da amostra, o espécime deve ser mantido a 2...8 °C; caso contrário devem ser alicotadas e armazenadas congeladas (-70...-20 °C). Se as amostras forem armazenadas congeladas, misturar bem as amostras descongeladas antes de testar. Evitar congelar e descongelar repetidamente.

Não é recomendada a inativação por calor das amostras.

### 6.1. Diluição das amostras

Antes de testar todas as amostras devem ser diluídas 1 + 100 com DIL. Dispensar 10 µL de amostra e 1 mL DIL em tubos para obter uma diluição 1 + 100 e misturar meticulosamente com um vortex.

## 7. PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Por favor, ler atentamente as instruções de utilização **antes** de realizar o teste. A fiabilidade dos resultados depende da adesão estrita às instruções de utilização, conforme descritas. O procedimento de ensaio a seguir está validado apenas para o procedimento manual. Se o teste for realizado em sistemas automáticos para teste ELISA é recomendável aumentar os passos de lavagem de três até cinco e o volume WASH BUF 1x de 300 µL para 350 µL para evitar efeitos de lavagem. Preste atenção ao capítulo 11. Antes de iniciar o teste, o plano de distribuição e identificação de todas as amostras e calibradores/controles (é recomendado determinar em duplicidade) deve ser cuidadosamente estabelecido. Seleccionar o número necessário de tiras ou poços e inserir os mesmos no suporte.

Realizar todas as etapas do teste na ordem indicada e sem atrasos significativos.

Na pipetagem deve ser utilizada uma ponta limpa e descartável para dispensar cada controle e amostra.

Ajustar a incubadora para 37 ± 1 °C.

1. Dispensar 100 µL dos calibradores/controles e das amostras diluídas nos poços respectivos. Deixar o poço A1 vazio para o branco substrato.
2. Cobrir os poços com a película fornecida no kit.
3. **Incubar durante 30 min a 37 ± 1 °C.**
4. Quando terminar a incubação, remover a película, aspirar o conteúdo dos poços e lavar cada poço três vezes com 300 µL WASH BUF 1x. Evitar que os poços de reacção transbordem. O intervalo entre a lavagem e a aspiração deve ser > 5 seg. No final, retirar cuidadosamente o fluido restante batendo delicadamente as tiras sobre papel absorvente, antes da próxima etapa!  
Nota: A lavagem é muito importante! Lavagem insuficiente resulta em baixa precisão e falsos resultados.
5. Dispensar 100 µL de Conjugado em todos os poços, excepto no poço do Branco substrato A1.
6. **Incubar durante 30 min à temperatura ambiente (20...25 °C).** Não expor directamente à luz solar.
7. Repetir a etapa 4.
8. Dispensar 100 µL SUB TMB em todos os poços.
9. **Incubar durante exactamente 15 min à temperatura ambiente (20...25°C) e no escuro.** A cor azul devido a uma reacção enzimática.
10. Dispensar 100 µL SOLN STOP em todos os poços, pela mesma ordem e com a mesma velocidade a que foi dispensada a SUB TMB, desse modo uma mudança de cor de azul para amarelo ocorre.
11. Medir a absorvância a 450/620 nm dentro de 30 min após a adição SOLN STOP.

## 7.1. Medição

Ajustar o fotômetro para Placa de Microtitulação ELISA a zero usando o **Branco substrato**.

Se - devido à razões técnicas – o fotômetro para Placa de Microtitulação ELISA não puder ser ajustado a zero usando o Branco substrato, valor da absorvância deste deve ser subtraído de todos os outros valores de absorvância medidos de forma a obter resultados fiáveis!

**Medir a absorvância** de todos os poços a **450 nm** e registar os valores da absorvância para cada calibrador/controle e amostra.

É recomendado fazer a medição **dicromática** usando como referência um comprimento de onda de 620 nm.

Se determinações duplas foram realizadas, calcular **os valores médios de absorvância**.

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Critérios de validação do ensaio

Para que um ensaio seja considerado válido, estas instruções de utilização devem ser rigorosamente seguidas, e os seguintes critérios devem ser cumpridos:

- **Substrato Branco:** Valor de absorvância < 0,100
- **Calibrador A:** Valor de absorvância < 0,200
- **Calibrador B:** Valor de absorvância > Standard A
- **Calibrador C:** Valor de absorvância > Standard B
- **Calibrador D:** Valor de absorvância > 0,100
- **Calibrador E:** Valor de absorvância > 0,400
- **Calibrador F:** Valor de absorvância > 1,000
- **Controle Baixo:** Resultado < 5 IU/mL
- **Controle Alto:** Resultado > 20 IU/mL

**Calibrador A < Calibrador B < Calibrador C < Calibrador D < Calibrador E < Calibrador F**

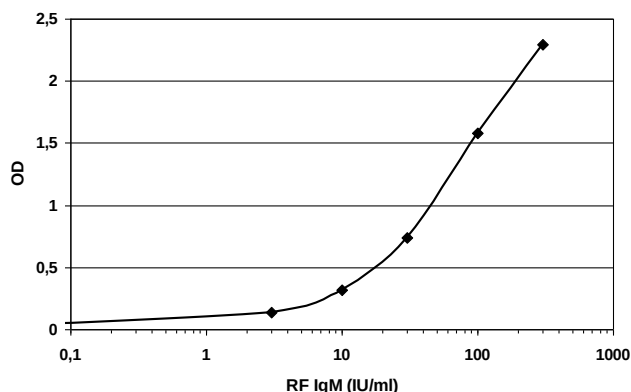
Se estes critérios não forem cumpridos, o teste não é válido e deve ser repetido.

### 8.2. Cálculo dos Resultados

Para obter resultados quantitativos em IU/mL, os valores de absorvância (média) dos calibradores A - F em papel para gráficos (linear/logarithmic) num sistema de coordenadas contra as suas respectivas concentrações e desenhe uma curva de calibração padrão (valores de absorvância no eixo vertical dos y, concentrações do eixo horizontal dos x).

Ler os resultados desta curva de calibração utilizando os valores de absorvância (média) de cada amostra do paciente e controle.

### 8.3. Curva de calibração típica



### 8.4. Interpretação dos Resultados

|                 |               |
|-----------------|---------------|
| Elevado         | > 15 IU/mL    |
| Zona intermedia | 10 – 15 IU/mL |
| Normal          | < 10 IU/mL    |

O diagnóstico de uma doença infecciosa não deve ser estabelecido com base num único resultado do teste. Um diagnóstico preciso deve ter em consideração a história clínica, a sintomatologia bem como dados serológicos.

Em pacientes imunossuprimidos e recém-nascidos os dados serológicos têm apenas valor restrito.

## 9. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

Os resultados referem-se aos grupos de amostras investigados; estas não são especificações garantidas.

### 9.1. Precisão

| Intra ensaio | n  | Média (E)     | CV (%) |
|--------------|----|---------------|--------|
| #1           | 24 | 1,170         | 1,0    |
| #2           | 24 | 0,216         | 2,0    |
| #3           | 24 | 2,127         | 2,1    |
| Inter ensaio | n  | Média (IU/mL) | CV (%) |
| #1           | 12 | 33,70         | 5,29   |
| #2           | 12 | 148,63        | 6,41   |
| #3           | 12 | 53,76         | 6,10   |

### 9.2. Especificidade Diagnóstica

A especificidade diagnóstica é definida como a probabilidade do ensaio ser negativo na ausência do analito específico. É de 94,12% (95% Intervalo de confiança: 83,76% - 98,77%).

### 9.3. Sensibilidade Diagnóstica

A sensibilidade diagnóstica é definida como a probabilidade do ensaio ser positivo na presença do analito específico. É de 98,0% (95% Intervalo de confiança: 89,35% - 99,95%).

### 9.4. Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (segundo CLSI EP17-A) – definida como a concentração aparente do analito que pode ser distinguida do calibrador zero é 0,08 IU/mL.

### 9.5. Interferências

Não são observadas interferências com amostras hemolisadas, lipêmicas ou ictericas até uma concentração de hemoglobina de 10 mg/mL, de triglicerídeos de 5 mg/mL e de bilirrubina de 0,5 mg/mL.

### 9.6. Intervalo de medição

O intervalo de medição é 0,08 IU/mL – 300 IU/mL.

## 10. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Contaminação bacteriana ou a repetição de ciclos de congelamento-descongelamento do espécime podem afectar os valores da absorvância.

## 11. PRECAUÇÕES E AVISOS

- O procedimento do teste, as informações, as precauções e avisos nas instruções de utilização têm de ser rigorosamente seguidas. O uso de kits de teste com analisadores e equipamento similar tem de ser validado. Qualquer alteração no desenho, composição e procedimento do teste bem como qualquer utilização em combinação com outros produtos não aprovados pelo fabricante não estão autorizados; o próprio utilizador é responsável por tais alterações. O fabricante não é legalmente responsável por resultados falsos e incidentes originados por estes motivos. O fabricante não é legalmente responsável por quaisquer resultados obtidos por análise visual das amostras dos pacientes.
- Apenas para uso no diagnóstico in-vitro.
- Todos os materiais de origem humana ou animal devem ser considerados e tratados como potencialmente infectantes.
- Todos os componentes de origem humana usados para a produção destes reagentes foram testados para anticorpos anti-HIV, anticorpos anti-HCV e HBsAg e foram considerados não-reactivos.
- Não trocar e/ou juntar reagentes ou Placa de Microtitulação de lotes de produção diferentes.
- nenhuns reagentes de outros fabricantes devem ser usados juntamente com reagentes deste kit de teste.
- Não usar reagentes após a data de validade indicada no rótulo.
- Usar apenas pontas de pipeta, dispensadores e material de laboratório limpos.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes para evitar contaminação cruzada.
- Fechar firmemente os frascos dos reagentes imediatamente após a utilização para evitar evaporação e contaminação microbiana.
- Após a primeira abertura e armazenamento subsequente verificar se existe contaminação microbiana dos frascos do conjugado e dos calibradores/controles antes de utiliza-los novamente.
- Para evitar contaminação-cruzada e resultados falsamente elevados, pipetar as amostras dos pacientes e dispensar o reagentes precisamente nos poços sem salpicar.
- O ELISA é projetado apenas para pessoal qualificado seguindo os padrões de boas práticas de laboratório (Good Laboratory Practice, GLP).
- Para um controle de qualidade interno adicional cada laboratório deve utilizar amostras conhecidas.

### 11.1. Nota de segurança para reagentes que contenham substâncias perigosas

Os reagentes podem conter CMIT/MIT (3:1) ou MIT (ver capítulo 3.1).

Portanto, as seguintes advertências de perigo e recomendações de prudência aplicam-se.

#### Atenção



|           |                                                                       |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------|
| H317      | Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.                           |
| P261      | Evitar respirar os aerossóis.                                         |
| P280      | Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção.                      |
| P302+P352 | SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com sabão água |
| P333+P313 | Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.          |
| P362+P364 | Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.       |

Os reagentes podem conter 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano (ver capítulo 3.1).

Portanto, as seguintes advertências de perigo e recomendações de prudência aplicam-se.

#### Atenção



|                |                                                                                                                                                                                   |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| H315           | Provoca irritação cutânea.                                                                                                                                                        |
| H319           | Provoca irritação ocular grave.                                                                                                                                                   |
| P280           | Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção.                                                                                                                                  |
| P302+P352      | SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com sabão água.                                                                                                            |
| P305+P351+P338 | SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. |
| P337+P313      | Caso a irritação ocular persista: Consulte um médico.                                                                                                                             |

Mais informações podem ser encontradas na ficha de dados de segurança.

### 11.2. Considerações de Eliminação

Os resíduos de produtos químicos e preparações são geralmente considerados como resíduos perigosos. A eliminação deste tipo de resíduos é regulamentada através de leis e regulamentos nacionais e regionais. Contacte as suas autoridades locais ou empresas de gestão de resíduos que darão conselhos sobre como eliminar os resíduos perigosos.

Para informações sobre os materiais de embalagem, consulte MATERIAIS DE EMBALAGEM.

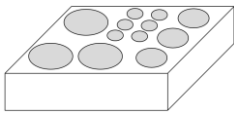
## 12. INFORMAÇÃO DE PEDIDO

|     |         |                       |                    |
|-----|---------|-----------------------|--------------------|
| REF | RFM3010 | Rheumatoid Factor IgM | (96 Determinações) |
|-----|---------|-----------------------|--------------------|

## ABBREVIATIONS / ABKÜRZUNGEN / ABREVIACIONES / ABREVIATURAS

|      |                                        |
|------|----------------------------------------|
| CMIT | 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one |
| MIT  | 2-methyl-2H-isothiazol-3-one           |

## PACKAGING MATERIALS / VERPACKUNGSMATERIALIEN / MATERIALES DE EMBALAJE / MATERIAIS DE EMBALAGEM

|                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                    |                                                                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br><b>PAP 21</b>                                                                                                                                     | <br><b>PAP 21</b> | <br><b>PAP 22</b>               |
| <div> <div>SOLN</div> <div>STOP</div> <div>WASH</div> <div>BUF</div> <div>20x</div> <div>SUB</div> <div>TMB</div> <div>DIL</div> <div>CONJ</div> <div>CAL</div> <div>CONTROL</div> <div>H</div> <div>CONTROL</div> <div>L</div> </div> |                                                                                                    |                                                                                                                    |
| <br><b>HDPE 2</b>                                                                                                                                    | <br><b>PP 5</b>   | <br><b>PET / ALU / LDPE 90</b> |

**SYMBOLS KEY / SYMBOLSCHLÜSSEL / SIMBOLOS / TABELA DE SIMBOLOS**

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | Manufactured by / Hergestellt von / Fabricado por / Fabricado por                                                                                                                                 |
| <b>IVD</b>                                                                          | In Vitro Diagnostic Medical Device / In Vitro Diagnosticum / Producto para diagnóstico In vitro / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro                                                    |
| <b>LOT</b>                                                                          | Lot Number / Chargenbezeichnung / Número de lote / Número de lote                                                                                                                                 |
|    | Expiration Date / Verfallsdatum / Fecha de caducidad / Data de Validade                                                                                                                           |
|    | Storage Temperature / Lagertemperatur / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de Armazenamento                                                                                              |
| <b>CE</b>                                                                           | CE marking / CE-Kennzeichnung / Marca CE / Marca CE                                                                                                                                               |
| <b>UDI</b>                                                                          | Unique Device Identifier / Eindeutige Produktidentifizierung / identificación única del producto / identificação única dos dispositivos                                                           |
| <b>REF</b>                                                                          | Catalogue Number / Katalog Nummer / Número de Catálogo / Número de Catálogo                                                                                                                       |
|    | Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulte las Instrucciones de Uso / Consultar as Instruções de Utilização                                                            |
| <b>MTP</b>                                                                          | Microtiterplate / Mikrotiterplatte / Placa de Microtitulaci3n / Placa de Microtitula33o                                                                                                           |
| <b>CONJ</b>                                                                         | Conjugate / Konjugat / Conjugado / Conjugado                                                                                                                                                      |
| <b>CONTROL L</b>                                                                    | Control Low / Kontrolle Niedrig / Control Bajo / Controle Baixo                                                                                                                                   |
| <b>CONTROL H</b>                                                                    | Control High / Kontrolle Hoch / Control Alto / Controle Alto                                                                                                                                      |
| <b>CAL</b>                                                                          | Standard or Calibrator A-F / Standard oder Kalibrator A-F / Est3ndar o Calibrador A-F / Standard ou Calibrador A-F                                                                                |
| <b>DIL</b>                                                                          | (Sample Dilution Buffer / Probenverdunnungspuffer / Tamp3n de Diluci3n de Muestras / Tamp3o de Dilui33o de Amostra)                                                                               |
| <b>SOLN STOP</b>                                                                    | Stop Solution / Stoppl3sung / Soluci3n de Parada / Solu33o de Bloqueio                                                                                                                            |
| <b>SUB TMB</b>                                                                      | TMB Substrate Solution / TMB-Substratl3sung / Soluci3n Substrato TMB / Solu33o Substrato TMB                                                                                                      |
| <b>WASH BUF 20x</b>                                                                 | “Washing Buffer (20x concentrated)”; <b>REF</b> W0000<br>Washing Buffer 20x concentrated / Waschpuffer 20x konzentriert / Tampone di Lavaggio concentrato x20 / Tamp3o de Lavagem concentrada 20x |
| <b>WASH BUF 1x</b>                                                                  | 20-fold dilution of <b>WASH BUF 20x</b> / 20-fach Verdunnung von <b>WASH BUF 20x</b> / Diluci3n dae 20 veces del <b>WASH BUF 20x</b> / Dilui33o de 20 dobras do <b>WASH BUF 20x</b>               |
|  | Contains sufficient for “n” tests / Ausreichend f3r “n” Tests / Contenido suficiente para “n” tests / Conte3do suficiente para “n” testes                                                         |

# SCHEME OF THE ASSAY

Rheumatoid Factor IgM

## Test Preparation

|                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Prepare reagents and samples as described.<br/>Establish the distribution and identification plan for all samples and standards/controls.<br/>Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.</p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## Assay Procedure

|                                                                                                                                                                          | Substrate Blank | Standard A - F | Control Low | Control High | Sample (diluted 1+100) |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------|-------------|--------------|------------------------|
| Substrate Blank                                                                                                                                                          | -               | -              | -           | -            | -                      |
| Standard A - F                                                                                                                                                           | -               | 100 µL         | -           | -            | -                      |
| Control Low                                                                                                                                                              | -               | -              | 100 µL      | -            | -                      |
| Control High                                                                                                                                                             | -               | -              | -           | 100 µL       | -                      |
| Sample (diluted 1+100)                                                                                                                                                   | -               | -              | -           | -            | 100 µL                 |
| <p>Cover wells with foil supplied in the kit<br/><b>Incubate for 30 min at 37 ± 1 °C</b><br/>Wash each well three times with 300 µL of <b>WASH BUF 1x</b></p>            |                 |                |             |              |                        |
| <b>Conjugate</b>                                                                                                                                                         | -               | 100 µL         | 100 µL      | 100 µL       | 100 µL                 |
| <p><b>Incubate for 30 min at room temperature (20...25 °C)</b><br/>Do not expose to direct sunlight<br/>Wash each well three times with 300 µL of <b>WASH BUF 1x</b></p> |                 |                |             |              |                        |
| <b>SUB TMB</b>                                                                                                                                                           | 100 µL          | 100 µL         | 100 µL      | 100 µL       | 100 µL                 |
| <b>Incubate for exactly 15 min at room temperature (20...25 °C) in the dark.</b>                                                                                         |                 |                |             |              |                        |
| <b>SOLN STOP</b>                                                                                                                                                         | 100 µL          | 100 µL         | 100 µL      | 100 µL       | 100 µL                 |
| <p>Photometric measurement at 450 nm<br/>(reference wavelength: 620 nm)</p>                                                                                              |                 |                |             |              |                        |



### Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 6074 23698-0

Fax: +49 6074 23698-900

E-Mail: [info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com](mailto:info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com)

Website: [clinical.goldstandarddiagnostics.com](http://clinical.goldstandarddiagnostics.com)

RFM3010\_IFU\_rev01\_fromLot\_023N