



Kit IgG4 Optilite®

Sólo para uso diagnóstico *in-vitro*

Código de Producto: LK009.OPT

Producto fabricado por:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, Reino Unido
www.bindingsite.co.uk

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

Optilite® es una marca registrada de The Binding Site Group Limited (Birmingham, Reino Unido) en ciertos países.



1 APLICACIÓN

El kit IgG4 Optilite está diseñado para la cuantificación *in vitro* de IgG4 en suero, o en plasma obtenido con heparina lito o EDTA en el analizador Optilite de Binding Site. La determinación de esta inmunoglobulina ayuda al diagnóstico de la metabolización anormal de proteínas y la falta de capacidad del organismo para oponer resistencia a agentes infecciosos. Este test se debe usar junto con otras determinaciones clínicas y de laboratorio.

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

En adultos normales, IgG constituye aproximadamente el 75% del total de inmunoglobulinas en suero. Dentro de la clase IgG, el orden habitual de concentración de las 4 subclases es IgG1>IgG2>IgG3>IgG4, pero la concentración real de cada una de ellas puede variar de manera notable entre individuos. Las cuatro subclases IgG presentan diferencias considerables en sus propiedades, incluyendo la habilidad para fijar complemento, para enlazarse a macrófagos y pasar a través de la placenta. Los niveles anormales de una o más subclases pueden estar asociados con varios trastornos, incluyendo la anafilaxis, enfermedad autoinmune y enfermedades digestivas además de hipo e hiper-gammaglobulinemia (Ref. 1). Este tema se ha revisado (Refs 2, 3).

3 PRINCIPIO

La evaluación de la concentración de un antígeno soluble por turbidimetría supone la reacción con un antisuero específico para formar complejos insolubles. Al pasar la luz a través de la suspensión formada, se transmite y focaliza una porción de esta luz a un fotodiodo mediante un sistema de lentes ópticas. La cantidad de luz transmitida es indirectamente proporcional a la concentración de proteína específica en la muestra analizada. Las concentraciones se calculan automáticamente en referencia a una curva de calibración almacenada en el instrumento.

4 REACTIVOS

- 4.1 Reactivo látex:** Consiste en anticuerpo monoespecífico policlonal de oveja unido a látex poliestireno. Conservantes: 0,05% de ProClin™*, 0,033% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA) y 0,01% de benzamidina.
- 4.2 Calibradores y controles:** Preparados a partir de una mezcla de suero humano, se suministran en forma líquida estabilizada. Conservantes: 0,099% de azida sódica, 0,1% de EACA y 0,01% de benzamidina. La concentración que aparece en el certificado de control de calidad se ha obtenido por comparación con el material de referencia internacional DA470k (Refs 4, 5).
- 4.3 Buffer de reacción:** Contiene 0,099% de azida sódica como conservante.

ProClin™ es una marca registrada de Rohm and Haas Corp., Philadelphia, PA.

5 PRECAUCIONES

Los sueros humanos suministrados en el kit han sido sometidos a screening para donantes, resultando negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), de los anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH1 y VIH2) y del virus de la hepatitis C. Las técnicas usadas están aprobadas por la FDA (USA) o aprobadas para el diagnóstico *in vitro* en la UE (Directiva 98/79/EC, Anexo II); sin embargo dichos ensayos no garantizan la ausencia de agentes infecciosos. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados para todos los materiales potencialmente infecciosos, incluyendo el uso de guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. Los procedimientos deben ser accesibles sólo a personal con formación específica.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica y ProClin 300 y debe ser manipulado con precaución; se deben usar guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. No trague ni permita el contacto con la piel o las mucosas (especialmente si hay heridas). En caso de contacto, lave con abundante agua y consulte a un médico. Con el plomo y el cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, lave con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida.

Este producto debe ser utilizado por personal especializado para los fines indicados en el apartado Aplicación. Se recomienda observar estrictamente el procedimiento indicado. No se garantizan resultados válidos obtenidos utilizando parámetros diferentes que los indicados.

Los reactivos de diferentes lotes **NO** son intercambiables.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit no abierto debe conservarse a 2-8°C y se puede usar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del kit. **NO CONGELAR.** El reactivo, calibrador y los controles pueden conservarse refrigerados a 2-8°C durante tres meses como máximo tras la apertura, tomando precauciones para evitar la evaporación. El reactivo se puede conservar, sin proteger, hasta 30 días en el analizador Optilite, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación.

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de sangre deben proceder de extracciones venosas, y en el caso del plasma separarlo lo antes posible. La sangre se ha de dejar que coagule de modo natural y separar el suero lo antes posible para prevenir la hemólisis. El suero puede conservarse a 2-8°C hasta un máximo de 8 días. Si el ensayo va a ejecutarse más tarde, se recomienda hacer alícuotas y congelar sin diluir a -20°C o temperatura inferior. No congelar y descongelar los sueros más de una vez. Centrifugue las muestras que contengan precipitados antes de realizar el ensayo. Es responsabilidad de cada laboratorio el uso de todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad específicos para su laboratorio (Ref 6).

8 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 100 Tests *Optilite IgG4 Reagent* (reactivo IgG4 Optilite)
- 8.1.2 1 x 2,1mL *Optilite IgG4 Calibrator* (calibrador IgG4 Optilite)
- 8.1.3 1 x 1,4mL *Optilite IgG4 High Control* (control alto IgG4 Optilite)
- 8.1.4 1 x 1,4mL *Optilite IgG4 Low Control* (control bajo IgG4 Optilite)
- 8.1.5 1 x 1,4mL *Optilite IgG4 Elevated High Control* (control elevado IgG4 Optilite)
- 8.1.6 1 x 1,6mL *Optilite IgG4 Antigen excess Control* (Control de exceso de antígeno IgG4)

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Materiales necesarios para la preparación de las muestras, como tubos para la recolección de la sangre, centrifuga, etc.
- 8.2.2 Analizador Optilite completamente equipado.
- 8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual de funcionamiento Optilite, código INS700.OPT
- 8.2.4 Diluyente 1 Optilite, código de producto IK709

8.3 Preparación de los reactivos

Antes de cargar, mezclar por inversión evitando la formación de espuma o burbujas que podrían interferir en el momento de la aspiración del reactivo.

8.4 Procedimiento de la prueba

El usuario deberá estar familiarizado con el funcionamiento del analizador Optilite antes de realizar la prueba. Preparar el equipo para su uso según las instrucciones del manual de funcionamiento Optilite.

- 8.4.1 Los parámetros de la prueba para este ensayo se indican en el código de barras del certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert009.OPT). Escanee los códigos Barcode 1 y Barcode 2 para cargar los parámetros.

8.5 Rango de medición

El rango de medición aproximado del ensayo se indica en la siguiente tabla:

Dilución del analizador Optilite	Rango aproximado (mg/L)
1+1	4,3 – 216
1+24	54 – 2700
1+120	261 - 13068
1+599	1296 – 64800

9 CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar al menos dos niveles de material de control adecuado una vez al día como mínimo. Además, se deben analizar controles tras la calibración, con cada nuevo lote de reactivo y tras el mantenimiento específico o los pasos de resolución de problemas descritos en el manual de funcionamiento Optilite.

El análisis de control se debe realizar de acuerdo a los requerimientos habituales y el procedimiento estándar de cada laboratorio.

Las concentraciones de los controles suministrados están indicadas en el certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert009.OPT). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del $\pm 15\%$ de las concentraciones indicadas.

En caso de que un control dé un resultado fuera del rango y se haya empleado una curva de calibración almacenada, se recomienda calibrar de nuevo el test. Si aún después de la nueva calibración estuviera fuera de rango, deberá verificarse el instrumento y los parámetros programados. Si no se solucionara el problema, rogamos se dirijan al soporte técnico de su proveedor.

Se puede obtener el valor de la suma de IgG añadiéndole los valores de las cuatro subclases, que debe estar dentro de un $\pm 20\%$ de la IgG total (ver 10.4).



10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Los tests turbidimétricos no son adecuados para la determinación de muestras que contengan factor reumatoide, paraproteínas, altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CICs) dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de IgG4. Deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio.
- Los resultados obtenidos mediante determinación de subclases IgG no se deben usar para evaluar piel atópica en pacientes alérgicos.
- Si la suma de IgG (ver sección 9) queda fuera del rango aceptable, se debe repetir el análisis de las muestras a una dilución superior.
- Se puede configurar la protección contra aviso de exceso de antígeno (marcas 'límite de antígeno bajo') para los resultados de IgG4, que se deben interpretar en conjunción con los resultados de la suma de las cuatro subclases IgG.
- No se puede excluir totalmente la potencial existencia de exceso de antígeno: en casos aislados, muestras con presencia de IgG4 monoclonal pueden dar resultados falsamente bajos debido al exceso de antígeno. Cuando esto ocurra o se sospeche, se recomienda analizar la muestra de nuevo a una dilución mayor para confirmar el resultado.

11 VALORES ESPERADOS

Los rangos indicados se han obtenido a partir de un número limitado de muestras y son únicamente orientativos. Los valores esperados pueden variar en función de la edad, sexo, tipo de muestra, dieta y localización geográfica. Cada laboratorio debe verificar la transmisibilidad de los valores esperados a la población a analizar y, si es necesario, establecer su propio rango de referencia.

Rango en suero de adultos

	Número (n)	Valor medio (mg/L)	Conc. mediana (mg/L)	Rango percentil 95 (mg/L)
IgG4	30	280	215,3	39,2 - 864

Rango en suero pediátrico

Estos rangos se han obtenido analizando la concentración de IgG4 de muestras de suero pediátrico procedentes de un hospital de Birmingham con los productos para inmunodifusión radial de Binding Site. Todas las concentraciones están expresadas en mg/L.

Edad	Número (n)	Valor medio (mg/L)	Rango percentil 95 (mg/L)
0-2 años	39	129	5 - 784
2-4 años	36	171	10 - 537
4-6 años	49	329	18 - 1125
6-8 años	43	331	4 - 992
8-10 años	32	349	19 - 932
10-12 años	46	323	16 - 1150
12-14 años	54	409	37 - 1360
14-18 años	48	521	110 - 1570

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

El estudio de precisión se realizó siguiendo las pautas CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. El estudio se llevó a cabo durante 21 días laborables, con 2 series al día. Un usuario midió los resultados de 9 muestras diferentes usando 3 lote de reactivo en 3 analizadores.

	Resumen de Precisión								
	Media (mg/L)	Intra-ensayo		Inter-ensayo		Inter día		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Nivel 1*	23.6	0.9	3.8	0.0	0.0	0.9	3.7	1.2	5.2
Nivel 2*	31.2	0.5	1.5	0.8	2.6	0.9	3.0	1.3	4.2
Nivel 3*	48.8	0.5	1.0	1.4	2.8	2.1	4.2	2.5	5.2
Nivel 4	124.0	1.9	1.6	2.2	1.8	5.7	4.6	6.5	5.2
Nivel 5	611.6	9.1	1.5	12.0	2.0	21.2	3.5	26.0	4.2
Nivel 6	1148.3	16.4	1.4	25.8	2.2	42.0	3.7	51.9	4.5
Nivel 7**	4371.3	88.3	2.0	86.7	2.0	206.2	4.7	240.5	5.5
Nivel 8	1473.6	20.8	1.4	27.8	1.9	51.7	3.5	62.2	4.2
Nivel 9	2152.5	23.0	1.1	77.7	3.6	40.1	1.9	90.4	4.2

* a la dilución de muestra 1+1

** a la dilución de muestra 1+599

12.2 Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 312 muestras (286 muestras clínicas, 26 muestras normales) con el kit IgG4 y un kit alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,92x + 10 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{analizador predicado})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0,992 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

Se realizó un estudio comparativo mediante el análisis de 56 muestras emparejadas de suero y plasma con heparina de litio usando el ensayo de Optilite IgG1. El análisis de regresión de Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,99x + 7,08 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{plasma heparina de litio}; x = \text{suero})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0,997 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

Se realizó un estudio comparativo mediante el análisis de 56 muestras emparejadas de suero y plasma EDTA usando el ensayo de Optilite IgG1. El análisis de regresión de Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,97x + 3,38 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{plasma EDTA}; x = \text{suero})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0,995 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

12.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LoQ) de este ensayo se define como el punto inferior del rango de medición, 4,3mg/L. El estudio de validación del LoQ se basó en el documento CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.4 Linealidad

El estudio de linealidad se basó en el documento CLSI EP6-A *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures*. Se ha demostrado linealidad en el rango de analito 19,96 mg/L a 3065,48mg/L con la dilución de muestra 1+ 24.

Ecuación de regresión: $y = 0,98x - 12,85$ (y = concentración medida, x = concentración teórica); $r = 0,999$

12.5 Sustancias interferentes

Se realizó un estudio siguiendo CLSI EP7-A2: Estudio de Interferencias en Química Clínica, Aprobadas en las directrices (CLSI documento EP7-A2). Se analizaron una muestra de suero normal, una muestra de suero con valor cercano al punto de decisión médica y una muestra de suero anormal. No se observaron interferencias significativas en los ensayos con Chyle (1500FTU), bilirrubina (200 mg / L) o hemoglobina (5 g / L)

No hay constancia de interferencia significativa con fármacos de uso habitual. Varias publicaciones ofrecen más información al respecto (Ref 7).

12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 26,4 veces el punto más alto de la curva de calibración a la dilución de muestra estándar 1 + 24. Esto equivale a 71280mg/L. Existen casos aislados de muestras que pueden presentar exceso de antígeno por debajo de este nivel: vea la sección 10.6.

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Shakib, F & Stanworth D R (1980). Human IgG subclasses in health and disease (Part II). *La Ricerca Clin. Lab.* 10, 561-580.
- Hamilton, R H (1987). Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. *Clin. Chem.* 33, 1707-1725.
- Schur, P H (1987). IgG subclasses – a review. *Annals of Allergy* 58, 89-99.
- Carr-Smith, H.D., Overton, J, Bradwell, A.R. (1997). IgG subclass value assignment to the protein reference preparation CRM470. *Clin. Chem.* Vol. 43, No. 56, PS238.
- Williams, D.R., Wilson, C.T., Carr-Smith, H.D. (2009). Assignment of IgG Subclass Values to the Protein Reference Preparation DA470k. *Clin. Chem.* Vol. 55, No. S6, PS C-90.
- CLSI GP44-A4. Vol. 30 No.10, 5.5.1.1.1, May 2010. "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline".
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. AAC Press, 2000.

