



## Kit IgA LCR Optilite®

**Sólo para uso diagnóstico *in vitro***

**Código de Producto: LK010.L.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. El resto de marcas y nombres de productos pueden ser marcas comerciales de sus respectivos propietarios.



### 1 APLICACION

El kit IgA en LCR Optilite está diseñado para la cuantificación *in vitro* de IgA en líquido cefalorraquídeo (LCR) y pares de muestras de LCR y suero en el analizador Optilite. La medición de esta inmunoglobulina contribuye a la evaluación de la incapacidad del organismo para resistir a la enfermedad infecciosa en combinación con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

### 2 RESUMEN Y EXPLICACION

El suero es la fuente principal de proteínas presentes en el LCR, cuyos niveles están regulados por la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y la velocidad de flujo de LCR. Un aumento de los niveles de proteínas en LCR puede ser indicativo de una disfunción en esa barrera y/o una síntesis local (intratecal) de inmunoglobulinas (Ig) en el sistema nervioso central (SNC). Esos parámetros se pueden evaluar mediante la determinación de las concentraciones de albúmina, IgG, IgA e IgM en suero y LCR.

Dado que la albúmina en LCR proviene exclusivamente en la sangre, el cociente LCR/suero en albúmina proporciona la determinación de la funcionalidad de la barrera. El cálculo de los cocientes LCR/suero y la comparación de los cocientes de Ig con el valor de albúmina en LCR/suero ayuda a diferenciar entre la Ig derivada del suero y la síntesis intratecal de Ig.

La evaluación de la función de la barrera, la síntesis intratecal y otros analitos variables en LCR puede ayudar al diagnóstico de una serie de trastornos del SNC. El aumento de IgA intratecal en LCR es indicativo de infecciones bacterianas como la meningitis tuberculosa.<sup>1,2</sup>

### 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 Latex Reagent:** Se suministra en forma líquida estabilizada. Los conservantes: 0,025% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA), 0,01% de benzamida y 0,05% ProClin™.

**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 ácido E-amino-n-caproico (EACA) y 0,01% de benzamida. La concentración que aparece en el certificado de control de calidad se ha obtenido por comparación con el material de referencia internacional DA470k.

**4.3 Buffer de reacción:** Contiene 0,099% de azida sódica como conservante.

### 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 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 OBTENCION DE MUESTRAS Y PREPARACION

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 3 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.

Las muestras de LCR deben conservarse a 2-8°C hasta 7 días. Si el ensayo va a ejecutarse más tarde, se deben conservar a -20°C hasta un máximo de 6 meses<sup>3</sup>. Las muestras de LCR deben centrifugarse antes del análisis.

Evitar el uso de muestras lipémicas, hemolizadas o contaminadas por microorganismos, o que contengan material particulado. Es responsabilidad cada laboratorio el uso de todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad específicos para su laboratorio.

### 8 METODOLOGIA

#### 8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 60 Tests *Optilite IgA CSF Reagent* (Reactivo IgA en LCR Optilite)
- 8.1.2 1 x 1,9mL *Optilite IgA CSF Calibrator* (calibrador IgA en LCR Optilite)
- 8.1.3 1 x 1,8mL *Optilite IgA CSF High Control* (control alto IgA en LCR Optilite)
- 8.1.4 1 x 1,8mL *Optilite IgA CSF Low Control* (control bajo IgA en LCR Optilite)

#### 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, centrífuga, 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 3 Optilite, código de producto IK711
- 8.2.5 Optilite Lavado especial, código de producto IK707

#### 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 (QCcert010.L.OPT). Escanee los códigos Barcode 1 y Barcode 2 para cargar los parámetros.
- 8.4.2 **Nota: Seleccione la dilución 1+399 al analizar muestras de suero.**

#### 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+0	0,91 – 20
1+1	1,65 – 40
1+399 (Sólo suero)	330 – 8000

#### 8.6 Interpretación de los resultados

Todos los inmunoensayos son susceptibles de mostrar exceso de antígeno. Para poder identificar muestras con exceso de antígeno, Optilite tiene un sistema de monitorización de la cinética de reacción. Cualquier muestra que presente una cinética de reacción atípica se marcará con un aviso de "Actividad elevada". Las muestras que hayan generado un aviso de "Actividad elevada" se volverán a analizar automáticamente a una dilución superior. Si tras la repetición la muestra da un resultado que se considera poco plausible, se debe repetir el análisis.

Consulte más información sobre la interpretación de avisos en el Manual de funcionamiento de Optilite (INS700.OPT) suministrado junto con el analizador.

**Aviso importante:** Ningún sistema de comprobación automática puede identificar todos los casos de exceso de antígeno, y un porcentaje muy bajo de muestras con exceso de antígeno pueden no provocar el aviso de "Actividad elevada". Se recomienda que se adjunte lo siguiente a todos los resultados de IgA.

"La falta de detección del exceso de antígeno es poco habitual pero no se puede descartar. Si estos resultados de cadenas ligeras libres no concuerdan con otras determinaciones clínicas y de laboratorio, o si la muestra proviene de un paciente que ha demostrado previamente exceso de antígeno, el resultado se debe comprobar volviendo a analizar la muestra a una dilución más alta. Los resultados siempre se deben interpretar junto con otras pruebas de laboratorio y evidencias clínicas: cualquier anomalía se debe consultar con el laboratorio de análisis".

## 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 reglamentarios 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 (QCcert010.L.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.

## 10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Turbidimetrische Tests sind nicht für die Bestimmung von lipämischen oder hämolytischen Proben, oder Proben, die zirkulierende Immunkomplexe (CIC) enthalten, geeignet, da diese Proben einen nicht vorhersagbaren Anteil an unspezifischer Trübung erzeugen können. Ungewöhnliche Ergebnisse sollten mit einer alternativen Methode überprüft werden.
- No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de IgA. Deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio.
- Puede producirse carry-over (valores de arrastre) en condiciones en las que los niveles de IgA sean extremadamente elevados (por ejemplo sueros de múltiples pacientes con mieloma). Se deben analizar estas muestras tan elevadas por separado del análisis de IgA en LCR.
- No se ha evaluado la interferencia bacteriana. Las muestras de LCR se deben analizar lo antes posible tras la extracción para limitar el crecimiento de bacterias y se deben centrifugar antes del análisis (ver sección 7).
- No se puede excluir totalmente la potencial existencia de exceso de antígeno: en casos aislados, muestras con presencia de IgA 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)
IgA	258	2464	2297	845 - 4990

### Rango de LCR en adultos

Intervalo de referencia para IgA en LCR: <5 mg/L (tras la conversión a DA470k).<sup>4</sup>

Sólo existen valores de referencia como tales para el cociente LCR/suero.<sup>1,4</sup>

## 12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

### 12.1 Precisión

LCR: 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 5 días laborables, con 2 series al día. Un usuario midió los resultados de 3 muestras diferentes usando 2 lotes de reactivo en 3 analizadores.

	Precision Summary									
	Mean (mg/L)	Within run		Between run		Between day		Total		
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	
Nivel 1	3,53	0,09	2,5	0,08	2,3	0,16	4,4	0,20	5,6	
Nivel 2	4,59	0,04	0,8	0,05	1,1	0,20	4,2	0,20	4,4	
Nivel 3	28,90	0,48	1,7	0,56	1,9	0,40	1,4	0,84	2,9	

Suero: 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 7 muestras diferentes usando 3 lotes de reactivo en 3 analizadores.

	Precision Summary									
	Mean (mg/L)	Within run		Between run		Between day		Total		
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	
Nivel 1	557	13,5	2,4	22,8	4,1	40,7	7,3	48,6	8,7	
Nivel 2	687	19,8	2,9	21,9	3,2	35,2	5,1	45,9	6,7	
Nivel 3	1142	17,1	1,5	26,6	2,3	37,8	3,3	49,3	4,3	
Nivel 4	2995	69,5	2,3	102,1	3,4	139,3	4,6	186,1	6,2	
Nivel 5	3797	78,1	2,1	84,1	2,2	227,2	6,0	254,6	6,7	
Nivel 6	6204	223,2	3,6	245,4	3,9	238,1	3,8	408,4	6,6	
Nivel 7	7463	203,7	2,7	351,5	4,6	167,0	2,2	439,3	5,7	

### 12.2 Estudio comparativo

LCR: Se realizó un estudio comparativo analizando 98 muestras de LCR (incluyendo 64 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con este kit de IgA en LCR Optilite y otro ensayo alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing & Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1,10x + 0,12 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{plasma heparina de litio; } x = \text{suero})$$

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

Suero: Se realizó un estudio comparativo analizando 85 muestras de suero (incluyendo 84 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con este kit de IgA en LCR Optilite y otro ensayo alternativo disponible en el mercado. Passing Bablok regression analysis generated the following results:

$$y = 0,92x + 79,02 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite; } x = \text{analizador predicado})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0,973 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

### 12.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LoQ) de este ensayo se define como el punto inferior del rango de medición, 0,91mg/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

Se llevó a cabo un estudio siguiendo el documento CLSI Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline (EP6-A). La linealidad de este ensayo ha sido confirmada mediante diluciones seriadas de muestras de LCR sobre el rango de 1,446 - 44,745mg/L y diluciones seriadas de muestras de suero sobre el rango de 258 - 8930mg/L con desviaciones de linealidad de <10 %.

### 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 a prueba muestras de suero y LCR con valores cercanos a los puntos de decisión médica. No se observaron interferencias significativas en los ensayos en suero con triglicéridos (500mg/dL), intralípidos (2000mg/dL), bilirrubina (100mg/L) o hemoglobina (5g/L). No se observaron interferencias significativas en los ensayos en LCR con hemoglobina (2.5g/L), bilirrubina (200mg/L), acetaminófono (1324µmol/L) o ácido acetilsalicílico (3.63mmol/L).

### 12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 1,64 veces el punto más alto de la curva de calibración a la dilución de muestra estándar de 1+1 y hasta el nivel de 1,64 veces el punto más alto de la curva de calibración a la dilución de muestra 1+399. Esto equivale a 65,61mg/L y 13122mg/L, respectivamente. En casos raros las muestras pueden presentar un exceso de antígeno por debajo de este nivel (ver la sección 8.6).

## 13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2001;184:101-22.
- Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, Siede WH. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 May;111(4):313-8.
- Wu AHB, ed. Tietz Clinical guide to laboratory tests, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2006: 600.
- Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In Thomas L (Ed.) *Clinical laboratory diagnosis*, TH-books, Frankfurt/Main 1998; 1308-26.