



Kit de IgM en LCR Optilite®

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

Código de Producto: LK012.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 APLICACIÓN

El kit IgM en LCR Optilite está diseñado para la cuantificación *in vitro* de IgM en líquido cefalorraquídeo (LCR) y pares de muestras 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 EXPLICACIÓN

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)¹. 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 de 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 la Ig derivada del suero y la síntesis intratecal de Ig.

La evaluación de la función de barrera, la síntesis intratecal y otros analitos variables en LCR puede ayudar al diagnóstico de una serie de trastornos del SNC.

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 Reactivo:** 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

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

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben proceder de extracciones venosas. La sangre debe dejarse coagular naturalmente. Separar el suero lo más rápidamente posible para evitar la hemólisis. Los sueros pueden conservarse a 2-8 °C durante un máximo de tres días. De lo contrario, se deberán alícuotar y congelar a -20 °C o a temperatura inferior para un almacenamiento prolongado. No congelar y descongelar los sueros más de una vez. Las muestras de LCR deben conservarse a 2-8 °C hasta 7 días y a -20 °C hasta un máximo de 6 meses². Las muestras de LCR deben centrifugarse antes del análisis. Evitar el uso de muestras lipémicas, hemolíticas o contaminadas por microbios, o de muestras que contengan partículas. 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 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 60 Tests Optilite IgM CSF Reagent (Reactivo IgM en LCR Optilite)
8.1.2 1 x 1.8mL Optilite IgM CSF Calibrator (calibrador IgM en LCR Optilite)
8.1.3 1 x 1.5mL Optilite IgM CSF High Control (control alto IgM en LCR Optilite)
8.1.4 1 x 1.5mL Optilite IgM CSF Low Control (control bajo IgM 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 1 Optilite, código de producto IK709
8.2.5 Diluyente 2 Optilite, código de producto IK710
8.2.6 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 para este ensayo se indican en el código de barras del certificado de control de calidad que acompaña al kit (p. ej., QCcert012.L.OPT). "Escanee los códigos de barras para cargar los parámetros"
8.4.2 Deberán analizarse las muestras de suero con una dilución 1+599 (encontrará información más detallada en el Manual de funcionamiento de Optilite (INS700.OPT) suministrado junto con el analizador).

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	0,11 – 4,0
1+1	1,0 - 40
1+599 (Sólo suero)	60 – 2400
1+799 (Sólo suero)	80 – 3200

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 generará:

- un aviso de "Actividad elevada" o
- un aviso de "Comprobación de actividad".

Las muestras que hayan generado un aviso de cualquiera de los dos tipos 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" o el de "Comprobación de actividad". Se recomienda que se adjunte lo siguiente a todos los resultados de IgM.

"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".

*El aviso de "Comprobación de actividad" únicamente se visualiza en instrumentos Optilite con el software V7.0 instalado.

	(mg/L)	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Nivel 1	0,44	0,01	2,8	0,01	2,5	0,02	4,6	0,03	5,9
Nivel 2	1,20	0,03	2,2	0,03	2,6	0,02	1,3	0,04	3,6
Nivel 3	3,02	0,07	2,3	0,09	2,9	0,06	2,0	0,13	4,2

12.2 Estudio comparativo

Suero: Se realizó un estudio comparativo analizando 50 muestras de suero (incluyendo 46 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con este kit de IgM en LCR Optilite y otro ensayo alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing & Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1.00x - 10 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{anizador prediado})$$

coeficiente de correlación $r = 0.979$ (calculado por regresión lineal)

LCR: Se realizó un estudio comparativo analizando 97 muestras de LCR (incluyendo 87 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con este kit de IgM en LCR Optilite y otro ensayo alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing & Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,97x + 0,03 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{anizador prediado})$$

coeficiente de correlación $r = 0,990$ (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, 0,11mg/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 0,109 – 5,227mg/L y diluciones seriadas de muestras de suero sobre el rango de 50.175-2629.351mg/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 (1000mg/dL), intralipidos (2000mg/dL), bilirrubina (200mg/L) o hemoglobina (5g/L). No se observaron interferencias significativas en los ensayos en LCR con hemoglobina (2,5g/L), bilirrubina (200mg/L), acetaminógeno (1324µmol/L) o ácido acetilsalicílico (3,63mmol/L).

12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 1,38 veces el punto más alto de la curva de calibración. Esto equivale a 5,5mg/L a la dilución de muestra estándar de 1+0 y a 3300mg/L a la dilución de muestra 1+599. 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.
- 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.

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 (QCcert012.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

- Los tests turbidimétricos no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CICs) dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de IgM. 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 IgM sean extremadamente elevados (por ejemplo sueros de múltiples pacientes con mieloma). Se deben analizar estas muestras tan elevadas por separado del análisis de IgM 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 IgM 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)
IgM	120	102	850	350 - 2420

Rango de LCR en adultos

Intervalo de referencia para IgM en LCR: <1,3 mg/L (tras la conversión a DA470k).³

Sólo existen valores de referencia como tales para el cociente LCR/suero.^{1,3}

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

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 4 muestras diferentes usando 3 lotes 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	242,51	4,16	1,7	4,59	1,9	14,29	5,9	15,58	6,4
Nivel 2	394,93	7,09	1,8	6,71	1,7	14,52	3,7	17,50	4,4
Nivel 3	1492,86	29,49	2,0	54,52	3,7	59,75	4,0	86,10	5,8
Nivel 4	1882,43	42,56	2,3	42,34	2,2	73,25	3,9	94,72	5,0

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 3 lotes de reactivo en 3 analizadores.

Resumen de Precisión				
Media	Intra-ensayo	Inter-ensayo	Inter día	Total