



Kit IgG de nivel bajo LCR Optilite®

Sólo para uso diagnóstico *in vitro* Código de Producto: NK004.LL.OPT

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

TheBindingSite 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 IgG de nivel bajo en LCR Optilite está diseñado para la cuantificación *in vitro* de IgG en orina, 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 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). 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 la barrera, la síntesis intratecal y otros analitos variables en LCR puede ayudar al diagnóstico de una serie de trastornos del SNC.

Se encuentran concentraciones elevadas de IgG en orina en pacientes con proteinuria glomerular no selectiva².

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: 0,099% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA), 0,01% de benzamidina 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 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.

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 OBTENCIÓN 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 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.

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 meses³. Las muestras de LCR se deben centrifugar antes del análisis.

Use muestras de orina recientes: se deben centrifugarse antes del análisis para eliminar partículas.

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 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 60 Tests Optilite IgG CSF Reagent (Reactivo IgG de nivel bajo LCR Optilite)
- 8.1.2 1 x 1.9mL Optilite IgG CSF Calibrator (calibrador IgG de nivel bajo LCR Optilite)
- 8.1.3 1 x 1.5mL Optilite IgG CSF High Control (control elevado IgG de nivel bajo LCR Optilite)
- 8.1.4 1 x 1.5mL Optilite IgG CSF Low Control (control bajo IgG de nivel bajo 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 Optilite Lavado especial, código de producto IK707
- 8.2.5 Diluyente 1 Optilite, código de producto IK709
- 8.2.6 Diluyente 2 Optilite, código de producto IK710

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 (QCcert004.LL.OPT). Escanee los códigos Barcode 1 y Barcode 2 para cargar los parámetros.
- 8.4.2 **Nota: Seleccione la dilución 1+199 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 | 7,5 – 135 |
| 1+9 | 75 - 1350 |
| 1+199 (Sólo suero) | 1500 – 27000 |

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 (QCcert004.LL.OPT). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del ±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

- 10.1 Turbidimétrische 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.
- 10.2 No se ha validado el uso de muestras pediátricas en este ensayo.
- 10.3 No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de IgG. Deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio.
- 10.4 Puede producirse carry-over (valores de arrastre) en condiciones en las que los niveles de IgG sean extremadamente elevados (por ejemplo sueros de múltiples pacientes con mieloma). Se deben analizar estas muestras tan elevadas por separado del análisis de IgG en LCR.
- 10.5 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).
- 10.6 No se puede excluir totalmente la potencial existencia de exceso de antígeno: en casos aislados, muestras con presencia de IgG 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) |
|------|------------|--------------------|----------------------|---------------------------|
| IgG3 | 120 | 10926 | 10807 | 6103 - 16160 |

Esto se verificó usando el suero de 50 donantes normales.

Rango de LCR en adultos

Intervalo de referencia para IgG en LCR: <34 mg/L (tras la conversión a DA470k).⁴

Sólo existen valores de referencia como tales para el cociente LCR/suero.^{1,4}

Rango en orina de adultos

Intervalo de referencia para IgG en orina: <9,6 mg/L². Esto se verificó usando la orina de 50 donantes normales.

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 6 muestras diferentes usando 2 lotes de reactivo en 4 analizadores.

| | Resumen de Precisión | | | | | | | | |
|---------|----------------------|--------------|------|--------------|------|-----------|------|-------|------|
| | Media (mg/L) | Intra-ensayo | | Inter-ensayo | | Inter día | | Total | |
| | | SD | CV % | SD | CV % | SD | CV % | SD | CV % |
| Nivel 1 | 2496,1 | 164,5 | 6,6 | 101,2 | 4,1 | 175,8 | 7,0 | 261,1 | 10,5 |
| Nivel 2 | 4604,4 | 218,9 | 4,8 | 188,8 | 4,1 | 198,9 | 4,3 | 350,9 | 7,6 |
| Nivel 3 | 7316,0 | 156,9 | 2,1 | 281,0 | 3,8 | 231,2 | 3,2 | 396,2 | 5,4 |
| Nivel 4 | 11672,1 | 219,2 | 1,9 | 270,7 | 2,3 | 362,2 | 3,1 | 502,5 | 4,3 |
| Nivel 5 | 19908,7 | 283,3 | 1,4 | 481,3 | 2,4 | 667,4 | 3,4 | 870,3 | 4,4 |
| Nivel 6 | 23595,4 | 552,8 | 2,3 | 0,0 | 0,0 | 579,2 | 2,5 | 800,7 | 3,4 |

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 4 muestras diferentes usando 1 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 | 13,5 | 0,3 | 2,5 | 0,2 | 1,4 | 1,2 | 9,2 | 1,3 | 9,6 |
| Nivel 2 | 34,6 | 1,3 | 3,6 | 0,4 | 1,2 | 2,0 | 5,7 | 2,4 | 6,9 |
| Nivel 3 | 111,4 | 0,8 | 0,7 | 2,4 | 2,2 | 3,9 | 3,5 | 4,7 | 4,2 |
| Nivel 4* | 988,9 | 9,6 | 1,0 | 29,1 | 2,9 | 22,9 | 2,3 | 38,2 | 3,9 |

* a la dilución de muestra 1+9

12.2 Estudio comparativo

Suero: Se realizó un estudio comparativo analizando 70 muestras de suero (incluyendo 66 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con este kit de IgG en LCR Optilite de nivel bajo y otro ensayo alternativo disponible en el mercado. Passing Bablok regression analysis generated the following results:

$$y = 1,01x + 255,01 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{anализador predіcado})$$

Coefficiente de correlación $r = 0,978$ (calculado por regresión lineal)

LCR: Se realizó un estudio comparativo analizando 66 muestras de LCR (incluyendo 30 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con este kit de IgG de nivel bajo en LCR Optilite y otro ensayo alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,96x + 4,48 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{anализador predіcado})$$

coeficiente de correlación $r = 0,998$ (calculado por regresión lineal)

Orina: Se realizó un estudio comparativo analizando 61 muestras de orina (incluyendo 29 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con el kit de IgG Optilite de nivel bajo y otro ensayo alternativo disponible en el mercado. El análisis generó los siguientes resultados:

| Kit de IgG Optilite de nivel bajo | Ensayo alternativo | |
|-----------------------------------|--------------------|--------|
| | + | - |
| | 29 | 3 |
| - | 1 | 28 |
| Sensibilidad relativa | | 96,67% |
| Especificidad relativa | | 90,32% |
| Concordancia relativa | | 93,44% |

12.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LoQ) de este ensayo se define como el punto inferior del rango de medición, 7,5 mg/L. El estudio de validación del LoQ se basó en el documento CLSI EP17-A *Protocol 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 7,5 – 135 mg/L y diluciones seriadas de muestras de suero sobre el rango de 1.500-27.000 mg/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 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 (500 mg/dL), intralípidos (1000 mg/dL), bilirrubina (200 mg/dL) o hemoglobina (5 g/L). No se observaron interferencias significativas en los ensayos en LCR con hemoglobina (625 mg/L), bilirrubina (50 mg/L), acetaminofeno (200 mg/L) o ácido acetilsalicílico (600 mg/L). No se observaron interferencias significativas en los ensayos en orina con ácido ascórbico (1000 mg/L) o urobilinógeno (45 mg/L).

12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 188 veces el punto más alto de la curva de calibración a la dilución de muestra estándar de 1+0. La muestra de suero analizada más elevada tenía una concentración de 25439 mg/L. En casos raros las muestras pueden presentar un exceso de antígeno por debajo de este nivel (ver sección 10.6).

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J NeuroSci* 2001;184:101-22
2. Hofmann W, Guder WG. A diagnostic programme for quantitative analysis of proteinuria. *J ClinChemClinBiochem* 1989; 27: 589-600.
3. Wu AHB, ed. Tietz Clinical guide to laboratory tests, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2006: 600.
4. Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In Thomas L (Ed.) *Clinical laboratory diagnosis*, TH-books, Frankfurt/Main 1998; 1308-26.