

KIT FACTOR REUMATOIDE HUMANO MININEPH™

Spanish

Para uso en Diagnóstico 'In Vitro'

Código Producto: ZK151.L.R

MININEPH™ es una marca registrada de The Binding Site Ltd., Birmingham, UK.

Producto fabricado por:

The Binding Site Ltd, PO Box 11712, Birmingham, B14 4ZB, U.K.
www.bindingsite.co.uk

Teléfono : +44 (0)121 436 1000

Fax : +44 (0)121 430 7061

e-mail: info@bindingsite.co.uk



1 PRINCIPIO DE USO

Este kit está diseñado para la determinación 'In Vitro' del factor Reumatoide en suero usando el MININEPH™. La determinación del Factor Reumatoide puede ayudar al diagnóstico de la artritis Reumatoide.

2 RESUMEN Y EXPLICACION

El Factor Reumatoide (FR) son Inmunoglobulinas de clase IgG, IgA o IgM dirigidas contra la fracción Fc de los agregados moleculares de IgG. La determinación del FR puede ser importante para el diagnóstico. Ej. En Artritis Reumatoide, la presencia de FR indica una peor prognosis que la ausencia de FR. Concentraciones elevadas de FR suelen estar asociadas con una mala evolución clínica y con otras patologías, por lo tanto, la presencia de FR no está restringida a enfermedades reumáticas (refs. 1,2).

3 PRINCIPIO DEL TEST

La determinación de la concentración de antígenos solubles mediante métodos nefelométricos implica una reacción con un antisuero específico que forma un complejo insoluble. Cuando la luz pasa a través de la suspensión formada, hay una proporción de luz que se dispersa y es detectada por un fotodiodo. La cantidad de luz dispersada es directamente proporcional a la concentración de proteína específica en la muestra. Las concentraciones se calculan de forma automática en referencia a una curva de calibración standard que está guardada en el equipo.

4 REACTIVOS

4.1 REACTIVO FR HUMANO PARA MININEPH

Son unos agregados (desnaturalizados) de IgG tapizando micropartículas de poliestireno. Se suministra en forma liofilizada. Contiene 0.099% de azida sódica como conservante. Cada vial se debe reconstituir con 1.0mL de agua destilada y dejarlo durante 30 minutos antes de su uso.

4.2 TARJETA MININEPH FR

En esta están codificados los detalles de la curva de reacción específica al correspondiente lote de antisuero. Esta tarjeta es específica de lote y debe ser usada sólo con ese lote de reactivo. La curva presente en la tarjeta se ha obtenido usando material de calibración de WHO, una preparación Internacional de Suero de Artritis Reumatoide NIBSC 64/2.

4.3 TAMPON MININEPH FR

Para usar con un lote concreto de reactivo FR. Contiene un 0.099% de acida sódica como conservante.

4.4 CONTROLES ALTOS Y BAJOS PARA FR HUMANO EN MININEPH

Se trata de una mezcla de sueros humanos normales que se suministran en forma líquida estabilizada. Contienen un 0.099% acida sódica como conservante. Los rangos de concentración de FR aceptables están descritos en el Certificado de Control de Calidad incluido en el kit. El número de lote descrito en el Certificado de Control de Calidad debe coincidir con el número de lote del kit.

5 PRECAUCION

El material de partida para la elaboración de los calibradores y controles proviene de sangre humana. Cada una de las muestras han sido examinadas y libres de anticuerpos del virus del Síndrome de Inmunodeficiencia Humana (HIV 1 & 2), Hepatitis C así como antígenos superficiales de Hepatitis B (HBsAG). No obstante, hasta la fecha no existen métodos seguros para la exclusión de estos agentes infecciosos ni de otros. Por lo tanto, deben tratarse los reactivos como potencialmente infecciosos. Tanto la manipulación como los métodos de eliminación de desechos deberán realizarse conforme a la normativa de materiales infecciosos y solo personal adecuadamente instruido deberá efectuar el test.

El kit contiene azida sódica 0,099% y debe tratarse según las medidas de seguridad correspondientes. Debe evitarse tanto la ingesta como el contacto con la piel y las mucosas. En caso de contacto, aclarar con abundante agua y consultar a un médico. La azida sódica puede formar ácidas metálicas explosivas en contacto prolongado con tubos de plomo o cobre. Tras la

eliminación aclarar con gran cantidad de agua con el fin de evitar depósitos de azida.

Se recomienda seguir el procedimiento descrito en estas instrucciones de empleo. De no seguir estas instrucciones, no se pueden garantizar los resultados.

NO SE PUEDEN mezclar reactivos con diferentes números de lote ni utilizar conjuntamente. En caso de realizar gran cantidad de pruebas, deberá tenerse en cuenta que todos los reactivos sean del MISMO LOTE.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los kits no abiertos se deben guardar entre 2-8°C y pueden ser usados hasta la fecha de caducidad descrita en la caja del kit. NO CONGELAR. El tampón se debe dejar atemperar a temperatura ambiente antes de ser utilizado. El reactivo y los controles se deben almacenar a 2-8°C y el tampón a temperatura ambiente. Una vez reconstituido, el reactivo es estable durante 2 semana si se almacena a 2-8°C. El tampón y los controles, una vez abierto, es estable durante 4 semanas si se almacenan siguiendo las recomendaciones de temperatura.

7 RECOLECCION Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Se deben usar muestras de suero. Las muestras de sangre se deben obtener por venopunción, permitir que el coagulo se forme de manera natural y separar el suero tan pronto como sea posible para prevenir la hemólisis. El suero se debe almacenar entre 2-8°C durante dos días, si no va a ser usado en este tiempo, se debe alicuotar y congelar a -20°C o a temperatura inferior. No congelar y descongelar el suero más de una vez. Las diluciones de la muestra se deben realizar el mismo día que se realice el ensayo. Algunos tipos de suero no pueden ser analizados por MININEPH – ver sección 10.1.

8 METODOLOGIA

8.1 MATERIAL SUMINISTRADO

- 8.1.1 2 x 1.0 mL MININEPH Human RF Reagent (Reactivo FR Humano para MININEPH)
- 8.1.2 1 x 25 mL MININEPH RF Buffer (Tampón FR MININEPH)
- 8.1.3 1 x 0.5 mL MININEPH Human RF High Control (Control FR Humano Alto para MININEPH)
- 8.1.4 1 x 0.5 mL MININEPH Human RF Low Control (Control FR Humano Bajo para MININEPH)
- 8.1.5 Tarjeta magnética con los datos de calibración específicos de lote.
- 8.1.6 Certificado Control Calidad
- 8.1.7 Hoja Instrucciones

8.2 MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- 8.2.1 Instrumento MININEPH (AD200)
- 8.2.2 impresora MININEPH (AD210) (opcional)
- 8.2.3 kit reactivos accesorios MININEPH (ZK500.R)
- 8.2.4 Pipeta electrónica (Ej. AD205)
- 8.2.5 Pipeta (5 – 1000µL)
- 8.2.6 Equipo para la recolección y preparación de muestras
- 8.2.7 Agua destilada

8.3 PROCEDIMIENTO DEL TEST

- 8.3.1 Resumen de los volúmenes de reactivo añadidos a la cubeta:

Reactivo	Volumen añadido
Muestra (dilución 1/40)	20µL
Tampón FR MININEPH	400µL
Reactivo FR Humano MININEPH	40µL

- 8.3.2 Poner en marcha el analizador y la impresora (si se dispone de ella).
- 8.3.3 *Ingrese número químico.* Introducir el número de parámetro (FR=96) y pulsar **enter**.
- 8.3.4 *Pasar tarjeta.* Este mensaje sólo aparecerá si es un parámetro que no se había usado nunca o si se quiere cambiar el número de lote. Pasar la tarjeta magnética a través del lector de tarjetas, pasándola de delante hacia atrás. La banda magnética debe estar hacia abajo y en el lado izquierdo.
- 8.3.5 *Verifique número lote de reactivo.* Pulsar **enter**.
- 8.3.6 *RF lote xxxx. OK? 1=Y 2=N.* Comparar la información que se muestra en la pantalla con la de la etiqueta del antisuero. Si el número de lote es igual al del vial, seleccionar **SI (press 1)** y continuar con el paso 8.3.7. Si el número de lote del vial es distinto al mostrado en la pantalla, seleccionar **NO (press 2)** y volver al paso 8.3.4 para introducir los detalles del lote correcto.
- 8.3.7 Preparar las diluciones de los controles y de las muestras usando el MININEPH Reactivo diluyente de muestras del material accesorio (ZK500.R). La dilución de muestra recomendada para FR es 1/40 (e.j. pipetear 20µL de muestra en un tubo de muestra y añadir 780µL de diluyente de muestra).

- 8.3.8 Preparar una cubeta MININEPH para cada muestra a testar. Utilizando las pinzas suministradas con MININEPH depositar una barra agitadora en cada cubeta y utilizando la pipeta, depositar 20µL de la muestra diluida en el fondo de la cubeta.
- 8.3.9 *Ingrese ID muestra.* Introducir un código de identificación (Ej. 1) para la primera muestra a testar y después pulsar **enter** para continuar (seguir el manual de usuario para elegir los códigos a utilizar).
- 8.3.10 *Dilución muestra 1/40.* Aceptar la dilución recomendada pulsando **enter**, o bien introducir un nuevo factor de dilución si es necesario utilizar una dilución alternativa.
- 8.3.11 *Coloque cubeta en cámara.* Disponer una cubeta que contenga la barra agitadora y los 20µL de muestra diluida en la cámara de cubetas. Presionar la cubeta suavemente hasta que toque el fondo de la cámara. La cubeta será detectada automáticamente.
- 8.3.12 *Agruee reactivo.* Con una pipeta electrónica coger 400µL de Tampón MININEPH FR y 40µL de reactivo FR humana MININEPH y dispensar este contenido en la cubeta. El MININEPH detectará la adición de reactivo, se realizará una agitación con la barra agitadora y comenzará el ensayo.- No es necesario pulsar 'enter'. Después de los 30 segundos de blanco, necesitará 100 segundos para terminar, el resultado se visualizará en la pantalla y se imprimirá (si hay una impresora conectada).
- 8.3.13 Una vez terminado el ensayo, sacar la cubeta y pulsar **enter** para realizar el ensayo siguiente.
- 8.3.14 Si el instrumento indica que el resultado está por encima del rango de detección, se deberá repetir el ensayo usando un factor de dilución de 1/400 (180µL Diluyente de muestra MININEPH + 20µL muestra diluida 1/40). La dilución de la muestra se deberá introducir como 1/400 (ver sección 8.3.10).
- 8.3.15 Si el instrumento indica que los resultados están por debajo del rango de detección, volver a testar la muestra con una dilución inferior como 1/11 (400µL Diluyente de muestra MININEPH+ 40µL muestra). La dilución de la muestra se deberá introducir como 1/11 (ver sección 8.3.10).
- 8.3.16 Cuando todos los ensayos para un mismo parámetro seleccionado se hayan terminado, pulsa (**esc**) y seleccionar un nuevo número de parámetro para otro grupo de ensayos.

8.4 CONTROL DE CALIDAD

Siguiendo las buenas prácticas de laboratorio, los usuarios deben introducir controles a testar en cada ciclo de muestras analizadas.

9 INTERPRETACION DE RESULTADOS

- 9.1 Los resultados son calculados por el instrumento y se muestran en UI/mL. Si hay una impresora conectada, el resultado se imprimirá automáticamente junto con el código de identificación del paciente y la dilución de la muestra. No son necesarios más cálculos.
- 9.2 El rango de determinación aproximado es 31–500 UI/mL a la dilución de muestra recomendada de 1/40. El límite de sensibilidad del ensayo es de 8.6 UI/mL cuando se usa una dilución de muestra de 1/11. No se recomiendan diluciones de muestra inferiores a 1/11.
- 9.3 Concentraciones de muestra de hasta 3850 UI/mL no daran lugar a un exceso de antígeno. Concentraciones superiores en las muestras pueden dar falsos resultados. Si se sospecha que esto pueda pasar, se deberían volver a testar las muestras a una dilución 1/400 (180µL Diluyente de muestra de MININEPH + 20µL muestra diluida 1/40).

10 LIMITACIONES

10.1 LIMITACIONES ESPECIFICAS DEL TEST

- 10.1.1 Muestras muy lipémicas, contaminadas microbiológicamente, turbias o hemolisadas no son susceptibles de ser analizadas nefelométricamente y no se deben usar si no han sido previamente centrifugadas o preparadas de forma apropiada. Un método de ensayo alternativo puede ser la inmunodifusión radial, que se recomienda si la turbidez no puede ser eliminada.
- 10.1.2 El Diagnóstico y tratamiento no se puede basar únicamente en la determinación de FR. La historia clínica y otros resultados de laboratorio deben ser tenidos en cuenta.

10.2 RESOLUCION DE PROBLEMAS

Problema	Posible Causa	Acción Sugerida
Mensaje de error "Blanco demasiado elevado-retestar" aparece en la pantalla.	Concentración de analito demasiado elevada Muestra lipémica, turbia o hemolisada	Volver a testar la muestra con una dilución superior Buscar un método de ensayo alternativo
Control fuera de rango.	Deterioro del producto Error del técnico.	Comprobar fecha de caducidad. Repetir el ensayo con la dilución de muestra correcta.
Muestra con resultados inexplicablemente bajos.	Exceso de antígeno.	Repetir el ensayo con una dilución superior. Comprobar que los dos resultados sean concordantes.

11 RESULTADOS ESPERADOS

Se testaron 120 sueros de donantes adultos sanos para FR en el MININEPH y el 97.5% de los sueros dio resultados por debajo de 19 UI/mL.

Recomendamos que se generen rangos de normalidad locales.

12 CARACTERISTICAS DE FUNCIONAMINETO

12.1 PRECISION

12.1.1 PRECISION INTRA-LOTE : Estos datos representan el coeficiente de variación (CV) de diez determinaciones intra-lote de las determinaciones a tres concentraciones distintas.

FR (UI/mL)	CV(%)
247	2.54
121	4.24
19.7	7.19

12.1.2 PRECISION DIA A DIA : Los ensayos se realizaron a tres concentraciones distintas en diez ocasiones. El CV de los 10 resultados a cada concentración fueron calculados.

FR (UI/mL)	CV(%)
237	5.81
114	4.34
19.8	4.52

12.1.3 PRECISION INTER-INSTRUMENTO : Los ensayos se realizaron a tres concentraciones distintas en cinco aparatos distintos. El CV de cada concentración se calculó.

FR (UI/mL)	CV(%)
250	6.20
117	5.28
18.6	7.56

12.2 LINEALIDAD

La linealidad de este ensayo se confirmó usando una muestra de suero diluido en serie. Este dio una recta de regresión combinada como sigue: $y = 0.973x + 10.90$, $R^2 = 0.999$ (y = Concentración FR determinada, x = concentración teórica) en un rango de 51 – 442 UI/mL.

A dilución de muestra 1/11 la ecuación de regresión es $y = 0.963x + 4.329$, $R^2=0.999$ se obtuvo en un rango 20 – 122 UI/mL.

A dilución de muestra 1/40 la ecuación de regresión es $y = 0.953x + 12.29$, $R^2=0.999$ se obtuvo en un rango 51 – 229 UI/mL.

12.3 INTERFERENCIA

Una interferencia mínima de ensayo (<10%) se demostró cuando preparaciones puras de IgA, IgM y IgG se añadieron a la muestra problema a una dilución 1/11.

12.4 ESTUDIO DE COMPARACION

Se realizó un estudio de correlación en 42 muestras clínicas usando este kit en un MININEPH y con un método comercial de referencia. El estudio dió una Buena correlación:

$$y = 0.951x + 0.79 \text{ UI/mL} \quad (y = \text{FR MININEPH})$$

$$(x = \text{Método Referencia})$$

coeficiente de correlación $r = 0.989$

Además, 25 muestras (débilmente positivas para Rose Waaler) dieron valores entre 13.1-39.0 UI/mL cuando se testaron con este kit en MININEPH a la dilución de muestra 1/11 y por un método de referencia comercial

Los resultados de ambos estudios se resumen a continuación.

Kit FR MININEPH	n=67	Kit Alternativo FR	
		+	-
+	59	0	
-	5*	3	
Sensibilidad relativa		92.2%	
Especificidad relativa		100%	
Concordancia relativa		92.5%	

*Se utilizaron poblaciones demográficas distintas para establecer los rangos de normalidad y esta puede ser la causa de estas cinco muestras débiles

13 REFERENCIAS

1. Waaler E (1940), On the Occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. Acta Pathol Microbiol Scand 17, 172-188.
2. Winchester R.J (1975) Characterization of IgG complexes in patients with rheumatoid arthritis. Ann NY Acad Sci 256, 73-81