

EQUIPO PARA DOSAJE DE IgG HUMANA MININEPH™

Spanish

Uso Diagnóstico In-Vitro

Código de Producto: ZK004.R

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

Producto fabricado por:
The Binding Site Ltd, PO Box 4073, Birmingham, B29 6AT, U.K.
www.bindingsite.co.uk

Teléfono : +44 (0)121 414 2000
Fax : +44 (0)121 472 6017
e-mail: info@bindingsite.co.uk



1 INDICACIONES

Este equipo está diseñado para la medición *in vitro* de IgG humana en suero usando el MININEPH™ como una herramienta en el diagnóstico de metabolismo anormal de la IgG. Si se utiliza la dilución recomendada, el rango de medición aproximado es 2.0 – 32 g/L. El límite de sensibilidad es 0.9 g/L usando una muestra diluida 1/5.

2 RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

En adultos normales, la IgG constituye aproximadamente el 75% del total de inmunoglobulinas séricas. Presenta un peso molecular de 50kD y está compuesta por dos cadenas pesadas gamma y dos cadenas livianas. Las IgG se dividen en cuatro subclases, IgG1, 2, 3 y 4, que muestran diferencias considerables en sus propiedades, incluyendo la capacidad de fijar complemento, de unirse a macrófagos y de atravesar la placenta. Los niveles séricos normales varían según la edad y raza. Niveles séricos elevados se asocian a enfermedad hepática crónica y mieloma. Niveles reducidos pueden asociarse a enfermedades malignas y otras condiciones que presentan una severa pérdida de proteínas (Refs 1,2).

3 PRINCIPIO DEL ENSAYO

La determinación de la concentración de antígenos solubles por métodos nefelométricos involucra una reacción con antisueros específicos para formar complejos insolubles. Cuando la luz pasa a través de la suspensión formada, parte de la misma es dispersada y detectada por un fotodiodo. La cantidad de luz dispersada es directamente proporcional a la concentración de la proteína específica en la muestra del ensayo. Las concentraciones se calculan automáticamente refiriéndose a una curva de calibración almacenada en el instrumento.

4 REACTIVOS

4.1 ANTISUERO IgG HUMANO MININEPH

El antisuero ha sido adsorbido para obtener IgG monoespecífica y es suministrado en forma líquida estabilizada. Contiene azida sódica 0.099%, EACA 0.1% y benzamida 0.01% como conservantes.

4.2 TARJETA MAGNETICA IgG MININEPH

Esta tarjeta codifica detalles de la curva de reacción específica para el correspondiente lote de antisuero. Esta tarjeta es específica de lote para el antisuero y debe ser usada sólo con este lote de antisuero. La curva presente en esta tarjeta ha sido preparada usando materiales de calibración secundarios que han sido calibrados contra CRM470.

4.3 TAMPÓN IgG MININEPH

Debe usarse solamente con este lote de reactivo IgG. Contiene azida sódica 0.099% como conservante.

4.4 CONTROLES DE TITULO ALTO Y BAJO DE IgG HUMANA MININEPH

Consisten en un pool de sueros humanos y son suministrados en forma líquida estabilizada. Contienen azida sódica 0.099%, EACA 0.1% y benzamida 0.01% como conservantes. Los rangos de concentraciones de IgG aceptables se indican en el Certificado de Control de Calidad incluido en el kit. El número de lote indicado en el Certificado de Control de Calidad debe ser idéntico al número de lote del kit.

5 PRECAUCIONES

Todos los donantes de suero humano suministrado en este equipo han sido testados y hallados negativos para antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg), para anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana (HIV1 y HIV2) y para virus de la hepatitis C. Sin embargo, estas pruebas no pueden garantizar la ausencia de agentes infecciosos. Deben establecerse métodos apropiados de manejo y descarte como para todo material potencialmente infeccioso y debe permitirse realizar los procedimientos sólo a personal adecuadamente entrenado en tales métodos.

Los componentes del equipo contienen azida sódica 0.099% como conservante y deben ser manejados con precaución; no ingerir ni permitir el contacto con piel o membranas mucosas. Si el contacto ocurriera, lavar con grandes volúmenes de agua y buscar ayuda médica. Pueden formarse azidas explosivas en contacto con plomo o cobre de los desagües; al descartar un reactivo, enjuagar con grandes volúmenes de agua para evitar la formación de azidas. Este producto debe ser utilizado sólo por personal adecuadamente entrenado para estos propósitos. Se recomienda seguir el procedimiento indicado. No se puede garantizar la validez de los resultados obtenidos si se usan parámetros diferentes a los indicados.

Los reactivos de equipos de diferente número de lote NO son intercambiables. Si se realiza un gran número de pruebas debe asegurarse de que todos los reactivos sean del mismo lote.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los equipos cerrados deben ser almacenados a 2-8°C y pueden ser utilizados hasta la fecha de vencimiento expuesta en la etiqueta de la caja del equipo. NO CONGELAR. Se debe permitir que la temperatura del tampón se equilibre con la del ambiente antes de usar. Una vez abierto, el antisuero y los controles deben ser almacenados a 2-8°C y el tampón a temperatura ambiente. Los antisueros y tampón abiertos son estables durante 3 meses y los controles abiertos son estables durante un mes si se almacenan de acuerdo con las recomendaciones.

7 EXTRACCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

Usar suero como muestra. Las muestras de sangre deben ser extraídas por venopuntura, permitir que coagulen naturalmente y separar el suero tan pronto como sea posible para prevenir la hemólisis. Los sueros pueden ser almacenados a 2-8°C por un período de hasta 2 días; sino alcuotarlo y congelarlo a -20°C o menos; no congelar y descongelar los sueros más de una vez. Las diluciones de las muestras deben ser preparadas en fresco en el día del ensayo. Algunos tipos de suero no son adecuados para el ensayo MININEPH – ver sección 10.1.

8 METODOLOGIA

8.1 MATERIALES PROVISTOS

- 8.1.1 1 x 2 mL MININEPH Human IgG Antiserum (Antisuero IgG Humano MININEPH)
- 8.1.2 1 x 25 mL MININEPH IgG Buffer (Tampón IgG MININEPH)
- 8.1.3 1 x 0.5 mL MININEPH Human IgG High Control (Control Alto IgG Humano MININEPH)
- 8.1.4 1 x 0.5 mL MININEPH Human IgG Low Control (Control Bajo IgG Humano MININEPH)
- 8.1.5 Tarjeta magnética conteniendo información de calibración específica del lote
- 8.1.6 Certificado de Control de Calidad
- 8.1.7 Folleto de instrucciones

8.2 MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

- 8.2.1 Instrumento MININEPH (AD200)
- 8.2.2 Impresora MININEPH (AD210) (opcional)
- 8.2.3 Reactivos accesorios MININEPH (ZK500.R)
- 8.2.4 Pipeta Electrónica (p.ej AD205)
- 8.2.5 Pipeta (5 – 40µL)
- 8.2.6 Equipamiento para la extracción y preparación de las muestras

8.3 METODOLOGIA

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

Reactivo	Volumen agregado
Muestra (dilución 1/11)	15µL
Bufer IgG MININEPH	400µL
Antisuero IgG humano MININEPH	40µL

- 8.3.2 Encender el analizador y la impresora (si están conectados).
- 8.3.3 *Ingresar el número del análisis.* Ingresar el número del análisis (IgG = 4) y presionar ENTER.
- 8.3.4 *Pasar la tarjeta del análisis.* Este mensaje será exhibido sólo si el análisis nunca fue realizado previamente o si se desea cambiar el número de lote del antisuero. Pasar la tarjeta magnética a través del lector de tarjetas moviéndola desde el frente del instrumento hacia atrás. La tira magnética debe estar abajo orientada hacia la izquierda.
- 8.3.5 *Revisar el número de lote del reactivo.* Presionar **enter**.
- 8.3.6 *IgG lot xxxx. OK? 1=Si 2=No.* Compare los detalles exhibidos con los que se encuentran en el rótulo del antisuero. Si el número de lote exhibido es idéntico al impreso en el frasco del antisuero, seleccionar SI (**presionar 1**) y continuar con el paso 8.3.7. Si el número de lote del vial es diferente al que se exhibe seleccionar NO (**presionar 2**) y volver al paso 8.3.4 para poder ingresar los datos correctos del lote.
- 8.3.7 Preparar diluciones de los controles y las muestras usando el Diluyente de la Muestra MININEPH suministrados en el equipo de Reactivos Accesorios MININEPH (ZK500.R). La dilución de la muestra recomendada para IgG es 1/11 (por ejemplo, usando la pipeta electrónica dispensar 400µL de diluyente de la muestra y 40µL de muestra en un tubo de dilución de la muestra).
- 8.3.8 Preparar una cubeta MININEPH por cada muestra a ensayar. Usando la pinza provista con el MININEPH colocar una barra agitadora en cada cubeta y luego usando una pipeta agregar 15µL de la muestra diluida cuidadosamente hacia el fondo de cada cubeta.

- 8.3.9 **Ingresar la identificación de la muestra.** Ingresar un código de identidad (por ejemplo, 1) para la primera muestra a ensayar y luego presionar **enter** para continuar (referirse al manual del usuario para elegir códigos de identidad).
- 8.3.10 **Dilución de la muestra 1/11.** Aceptar la dilución recomendada presionando **enter**, o bien digitar un nuevo factor de dilución si se usará una dilución alternativa.
- 8.3.11 **Coloque la cubeta en la cámara.** Coloque una cubeta conteniendo una barra agitadora y 15µL de muestra diluida en la cámara para la cubeta. Presionar suavemente la cubeta hacia abajo hasta alcanzar el piso de la cámara. La cubeta será detectada automáticamente.
- 8.3.12 **Agregar reactivo.** Llenar una pipeta electrónica con 400µL de Tampón IgG MININEPH y 40µL de Antisuero IgG Humano MININEPH y dispensar su contenido dentro de la cubeta. El MININEPH detectará el agregado seguido por el movimiento de la barra agitadora y se iniciará el ensayo. No es necesario presionar **enter**. Luego de 5 segundos de blanco, el ensayo se completará en 15 segundos, el resultado entonces se exhibirá e imprimirá automáticamente (si se encuentra conectada la impresora).
- 8.3.13 Si el instrumento indica un resultado por encima del rango de medida, repetir el análisis a mayor concentración 1/50 (980µL Diluyente de Muestra MININEPH + 20µL muestra). Deberá entrarse la dilución de muestra como 1/50 (ver sección 8.3.10).
- 8.3.14 Si el instrumento indica un resultado por debajo del rango de medida, repetir el análisis a menor concentración 1/5 (160µL Diluyente de Muestra MININEPH + 40µL muestra). Deberá entrarse la dilución de muestra como 1/5 (ver sección 8.3.10).
- 8.3.15 Luego de finalizado el ensayo extraer la cubeta y presionar **enter** para realizar el próximo análisis.
- 8.3.16 Cuando todos los ensayos para el parámetro elegido han sido completados presione escape (**esc**) y seleccione el número del análisis para el próximo grupo de ensayos.

8.4 CONTROL DE CALIDAD

Siguiendo las buenas prácticas de laboratorio, los usuarios deben correr controles con cada lote de muestras.

9 INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

- 9.1 Los resultados son calculados por el instrumento y exhibidos en g/L. Si la impresora se encuentra conectada el resultado se imprimen automáticamente junto al código de identificación de paciente y la dilución de la muestra. No son necesarios cálculos posteriores.
- 9.2 El rango del ensayo está limitado al enunciado bajo Indicaciones. Concentraciones de la muestra de hasta 55 g/L no resultarán en exceso de antígeno. Concentraciones más altas pueden dar resultados erróneos; si esto se sospechara, las muestras deberán reensayarse a una dilución de 1/50 (20µL de muestra + 980µL de Diluyente de la Muestra MININEPH).

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

10.1 LIMITACIONES ESPECIFICAS DEL ENSAYO

- 10.1.1 Muestras altamente lipémicas, con contaminación microbiana, turbias o hemolizadas pueden no resultar aptas para mediciones nefelométricas y no deberían ser usadas a menos que sean centrifugadas o preparadas de alguna forma apropiada. Se recomienda realizar el ensayo por un método alternativo, por ejemplo, inmunodifusión radial, si no fuera posible eliminar la turbidez.
- 10.1.2 Estos equipos no son apropiados para medir muestras que contengan factor reumatoideo, paraproteínas o complejos inmunes circulantes (CIC), debido al grado impredecible de señales inespecíficas que este tipo de muestras pueden generar.
- 10.1.3 No debe realizarse un diagnóstico ni iniciarse tratamiento basándose únicamente en mediciones de IgG. La historia clínica y otros hallazgos de laboratorio deben también ser tenidos en cuenta.

10.2 CAUSAS DE ERROR

Problema	Causas(s) Posibles	Accion(es) Sugeridas
Mensaje de error exhibido: "Blanco demasiado alto – reensayar".	Concentración muy alta del analito. Muestras lipémicas, turbias o hemolisadas.	Reensayar la muestra a una mayor dilución. Probar un método de ensayo alternativo.
Controles fuera de rango.	Deterioro del producto. Error del operador.	Verificar fecha de vencimiento. Repetir el ensayo con la dilución de la muestra correcta.
Muestras que arrojan resultados inesperadamente bajos.	Exceso de antígeno.	Repetir el ensayo a una mayor dilución. Controlar si los dos resultados coinciden.

11 RESULTADOS ESPERADOS

Los siguientes resultados de IgG fueron obtenidos con sueros obtenidos de donantes adultos con el MININEPH. Las concentraciones se expresan en g/L. Nosotros recomendamos generar rangos de referencia locales.

Número	Media	Mediana	Rango de Percentilo 95
50	9.87	9.56	6.56-13.51

Las concentraciones de inmunoglobulinas séricas son dependientes de la edad. Los resultados que siguen fueron obtenidos por inmunodifusión radial (Ref. 3).

EDAD	IgG (g/L)		IgA (g/L)		IgM (g/L)	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
Sangre Cordón	10.93	7.45 - 16.02	0.01	0 - 0.08	0.11	0.04 - 0.26
1/2 - 3 Meses	4.86	2.93 - 8.06	0.13	0.03 - 0.57	0.51	0.16 - 1.64
3 - 6 Meses	3.60	1.39 - 9.34	0.18	0.04 - 0.78	0.49	0.20 - 1.20
6 - 12 Meses	6.66	4.10 - 10.81	0.32	0.13 - 0.82	1.04	0.48 - 2.29
1 - 2 Años	6.30	3.49 - 11.39	0.36	0.13 - 1.02	1.03	0.40 - 2.29
2 - 3 Años	7.61	4.82 - 12.00	0.51	0.22 - 1.18	1.06	0.54 - 2.09
3 - 6 Años	8.50	5.53 - 13.07	0.77	0.33 - 1.08	1.11	0.56 - 2.18
6 - 9 Años	9.68	6.46 - 14.51	1.01	0.28 - 2.22	1.13	0.55 - 2.32
9 - 12 Años	9.62	6.13 - 15.12	1.21	0.57 - 2.56	1.41	0.70 - 2.84
12 - 16 Años	9.89	6.67 - 14.64	1.28	0.77 - 2.19	1.13	0.49 - 2.61
Adultos	10.99	6.58 - 18.37	1.61	0.71 - 3.60	1.33	0.40 - 2.63

12 CARACTERISTICAS DE FUNCIONAMIENTO

12.1 PRECISION

- 12.1.1 PRECISION INTRA-LOTE: Estos datos representan el coeficiente de variación (CV) promedio de tres mediciones intra-lote a dos concentraciones de analitos. Cada experimento consistió en 10 ensayos repetidos de cada concentración.

IgG (g/L)	CV(%)
16.66	2.01
5.39	2.01

- 12.1.2 PRECISION DIA A DIA: Diez mediciones intra-lote fueron realizadas en tres ocasiones separadas y se calculó el CV para los treinta resultados calculados en cada concentración.

IgG (g/L)	CV(%)
16.66	7.40
5.39	5.71

- 12.1.3 PRECISION INTER-INSTRUMENTO: Se realizaron ensayos cinco veces en dos diferentes concentraciones en tres instrumentos. Se calculó el CV de los quince resultados en cada concentración.

IgG (g/L)	CV(%)
16.66	4.90
5.39	5.02

12.2 ESTUDIOS COMPARATIVOS

Se realizó un estudio de correlación en 123 muestras de suero normales y clínicas usando este equipo en un MININEPH™ y un ensayo de IgG de Behring en un Behring Nephelometer Analyser™. El estudio demostró una buena concordancia arrojando la siguiente ecuación de regresión lineal y coeficiente de correlación.

$$y = 1.01x - 0.342 \quad \text{g/L} \quad (y = \text{MININEPH}^{\text{TM}} \text{ IgG}) \\ (x = \text{BNA IgG})$$

coeficiente de correlación $r = 0.954$

Behring Nephelometer Analyser™ es una marca registrada de Dade Behring, Marburg, GmbH.

13 REFERENCIAS

- Zilva, JF & Pannall, PR (1984) Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Publ. Lloyd-Luke (Medical Books) Ltd, London pp 348-352.
- Bradwell, AR (1995), IgG and IgA Subclasses in Disease. ISBN 0704416239 (Available from The Binding Site Ltd.)
- Lentner, C (Ed) (1984). Geigy Scientific Tables, 8th Edition, Vol 3. Publ. Ciba Geigy Ltd, Basle, Switzerland. Table 36, p154.