

Determinación cuantitativa de inmunoglobulina G (IgG) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de IgG en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos anti-IgG forman compuestos insolubles cuando se combinan con la IgG de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de IgG en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de IgG de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La IgG es la inmunoglobulina más importante producida por células plasmáticas, y representa un 75% del total de inmunoglobulinas. Su principal función es neutralizar toxinas en el espacio tisular.

El déficit de IgG puede ser debido a problemas congénitos primarios (inmunodeficiencia congénita y adquirida) y supone un riesgo especial en niños.

La hiperglobulinemia policlonal es la respuesta normal a infecciones, especialmente en hepatitis y cirrosis así como enfermedades autoinmunes.

Incrementos de IgG monoclonal se observan en el mieloma múltiple, leucemia linfocítica y la macroglobulinemia de Waldenström.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-IgG humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACION

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el Calibrador PROT CAL para la calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada mes, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACION

Reactivos: Listos Para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador PROT CAL en NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de IgG, multiplicar la concentración de IgG del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	6,25	12,5	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	93,75	87,5	75	50	-
Factor	0	0,0625	0,125	0,25	0,5	1,0

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro: Presencia de partículas y turbidez.

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 600 nm (580-620 nm).

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 600 nm

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1	800 µL
Muestra o Calibrador	10 µL

5. Mezclar y leer la absorbancia (A₁) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	200 µL
-------------	--------

7. Mezclar y leer la absorbancia (A₂) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias (A₂ - A₁) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de IgG de cada dilución del Calibrador. La concentración de IgG en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A₂ - A₁) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL cod: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA⁴

Entre 700 - 1600 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. Rango de medida: hasta 3000 mg/dL en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.

2. Límite de detección: valores por debajo de 10,3 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. Sensibilidad: Δ 0,6 mA / mg/dL (359 mg/dL).

4. Efecto prozona: No se observa efecto prozona hasta valores de 8000 mg/dL.

5. Precisión: El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	340.3 mg/dl	801.96 mg/dl	1517.5 mg/dl
Total	2.1%	2.8%	4.8%
Within Run	0.9%	0.7%	1%
Between Run	1.5%	1.5%	1.8%
Between Day	1%	2.2%	4.4%

6. Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método Elecsys (Roche). 79 muestras de concentraciones de IgG entre 450 y 2600 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,94 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0.957x + 105.67$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS⁵⁻⁶

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y los lípidos (10 g/L), no interfieren. Los factores reumatoídes interfieren a concentraciones superiores a 300 UI/mL. Otras sustancias pueden interferir ^{5,6}.

NOTAS

1. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520.
5. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACION

Ref.: 1103004 Cont. R1. Diluyente: 1 x 40 mL
R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL