

Human IgG CSF Kit for use on SPAPLUS

For *in-vitro* diagnostic use

Product Code: NK004.L.S

Product manufactured by:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk
Telephone: +44 (0)121 456 9500
Fax: +44 (0)121 456 9749
E-mail: info@bindingsite.co.uk

FDA (USA) Information
Analyte Name: Immunoglobulins IgG
Complexity Cat.: Moderate



1 INTENDED USE

Human IgG CSF Kit for use on SPAPLUS is intended for the quantitative measurement of human IgG in cerebrospinal fluid (CSF) samples using the SPAPLUS analyser. Measurement of this immunoglobulin aids in the assessment of the body's lack of ability to resist infectious disease in conjunction with other clinical and laboratory findings.

2 SUMMARY AND EXPLANATION

Serum is the predominant source for proteins present in the CSF, the levels of which are regulated by the permeability of the blood-CSF barrier and CSF flow rate. An increase in CSF protein levels can be indicative of barrier dysfunction and/or local (intrathecal) synthesis of immunoglobulin (Ig) within the central nervous system (CNS)¹. These parameters can be evaluated by measurement of the serum and CSF concentrations of albumin, IgG, IgA and IgM.

As albumin in CSF originates exclusively from blood, the albumin CSF/serum ratio provides a measurement of barrier function. Calculation of CSF/serum ratios and comparison of the Ig ratios to the albumin CSF/serum value can differentiate between the serum-derived Ig and intrathecal Ig synthesis.

The assessment of barrier function, intrathecal synthesis and other variable CSF analytes can be useful in the diagnosis of a variety of CNS disorders^{1,2}.

3 PRINCIPLE

The determination of soluble antigen concentration by turbidimetric methods involves the reaction with specific antiserum to form insoluble complexes. When light is passed through the suspension formed a portion of the light is transmitted and focused onto a photodiode by an optical lens system. The amount of transmitted light is indirectly proportional to the specific protein concentration in the test sample. Concentrations are automatically calculated by reference to a calibration curve stored within the instrument.

4 REAGENTS

4.1 IgG CSF Antiserum: This is monospecific for IgG and is supplied in stabilised liquid form. It contains 0.099% sodium azide, 0.1% E-amino-n-caproic acid (EACA) and 0.01% benzamide as preservatives.

4.2 Calibrator and Controls: These consist of pooled human serum and are supplied in stabilised liquid form. They contain 0.099% sodium azide, 0.1% EACA and 0.01% benzamide as preservatives. The concentration of IgG given on the quality control certificate has been obtained by comparison with DA470k (formerly CRM470) International Reference Material.

4.3 Reaction Buffer: Containing 0.099% sodium azide as a preservative.

5 CAUTION

All donors of human serum supplied in this kit have been serum tested and found negative for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies to human immunodeficiency virus (HIV1 and HIV2) and hepatitis C virus. The assays used were either cleared by the FDA (USA) or cleared for *in vitro* diagnostic use in the EU (Directive 98/79/EC, Annex II); however, these tests cannot guarantee the absence of infective agents. Proper handling and disposal methods should be established as for all potentially infective material, including (but not limited to) users wearing suitable protective equipment and clothing at all times. Only personnel fully trained in such methods should be permitted to perform these procedures.

WARNING: This product contains sodium azide and must be handled with caution; suitable gloves and other protective clothing should be worn at all times when handling this product. Do not ingest or allow contact with the skin (particularly broken skin or open wounds) or mucous membranes. If contact does occur wash with a large volume of water and seek urgent medical advice. Explosive metal azides may be formed on prolonged contact of sodium azide with lead and copper plumbing; on disposal of reagent, flush with a large volume of water to prevent azide build up.

This product should only be used by suitably trained personnel for the purposes stated in the Intended Use. Strict adherence to these instructions is essential at all times. Results are likely to be invalid if parameters other than those stated in these instructions are used.

Reagents from different batch numbers of kits are NOT interchangeable. If large numbers of tests are performed care should be taken to ensure that all the reagents are from the same batch.

6 STORAGE AND STABILITY

The unopened kit should be stored at 2-8°C and can be used until the expiry date shown on the kit box label. DO NOT FREEZE. The Human IgG CSF antiserum, Reaction Buffer, calibrators, and controls may be stored for up to two months after opening providing that they are capped to avoid evaporation and kept at 2-8°C in a refrigerator. The Human IgG

CSF antiserum and Reaction Buffer may be stored, uncapped, on the SPAPLUS analyser for up to 30 days, provided that the main power switch (located at the rear of the left hand panel) is left switched on.

7 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Suitable samples are human CSF tested as fresh as possible. CSF samples may be stored at 2-8 °C for up to 7 days and can be kept at -20°C for up to 6 months.³ Samples must be centrifuged prior to testing.

8 METHODOLOGY

8.1 Materials provided

- 8.1.1 1 x 60 Tests Human IgG CSF Antiserum SPAPLUS
- 8.1.2 1 x Human IgG CSF SPAPLUS Calibrator set 1-6 (6 x 1.0mL)
- 8.1.3 2 x 1.5mL Combined CSF SPAPLUS High Control
- 8.1.4 2 x 1.5mL Combined CSF SPAPLUS Low Control
- 8.1.5 1 x 60 Tests IgG CSF Reaction Buffer SPAPLUS

8.2 Materials required but not provided

- 8.2.1 Equipment for collection and preparation of test samples e.g. sample tubes, centrifuge etc
- 8.2.2 A fully operational and equipped SPAPLUS analyser
- 8.2.3 Current analyser operating instructions: SPAPLUS Reference Guide, Insert Code FIN012
- 8.2.4 Sample Diluent (99: Dil 1) Product Code: SN080.S
- 8.2.5 2% Alkaline wash solution (working dilution)

8.3 Reagent preparation

Before loading, gently mix by inversion ensuring no foam or bubbles are generated or remain on the surface as these may interfere with reagent aspiration.

8.4 Test procedure

The user should be familiar with the operation of the SPAPLUS analyser before attempting to carry out the test procedures. The analyser should be prepared for use according to the manufacturer's instructions and the assay protocol entered as described below.

For full details of analyser operation refer to the SPAPLUS Reference Guide (FIN012) supplied with the analyser.

8.4.1 Test parameters

Assay parameters are entered into item number 30.

Item Name 30 IgG C		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		Type Spline 1 ▼	
Units	mg/L	Standard	
Decimals	2	1 #	4 #
		2 #	5 #
		3 #	6 #
ANALYSIS			
Type	End ▼		
Main W.Length 1	340 ▼		
Sub W.Length	▼		
		NORMAL RANGE	
Method		LOW	MALE HIGH
			FEMALE LOW HIGH
CORR.		Serum	[] [] [] [] [] []
		Urine	[] [] [] [] [] []
		Plasma	[] [] [] [] [] []
		CSF	[] [] [] [] [] []
		Dialysis	[] [] [] [] [] []
		Other	[] [] [] [] [] []
Y =	SLOPE X + INTER		
	1 0		
Page : 1 Print Hard Copy		Next Page	Save Return

Item Name 30 IgG C		DATA PROCESS	
ASPIRATION		READ	ABSORBANCE LIMIT
KIND	Single Double	START	END
		MAIN	53 54
		SUB	30 31
		LOW	-3.0
		HIGH	#
SAMPLE		FACTOR	
VOLUME	30	Blank correction	* 0
REAGENT1 VOL	170 µL	ENDPOINT LIMIT	2.0
REAGENT2 VOL	20	CHECK POINT	
		LINEAR CHECK (%)	0
		LOW	-3
		HIGH	3
Third mix ● OFF ○ ON		DILUTION	
R1 Blank ● Water - Blank		Diluent	● 99: Dil 1 ○ 100: Dil 2
		Pre Dilution Rate	▼
		Auto Rerun Dilution Rate High	10
		Auto Rerun Dilution Rate Low	▼
MONITOR		PROZONE CHECK	
LEVEL SPAN 1		FIRST	START END LIMIT (%)
SPAN	3.0	SECOND	[] [] [] [] [] []
		THIRD	[] [] [] [] [] []
			○ Low ● High
			○ Low ● High
Page : 2 Print Hard Copy		Prev Page	Next Page Save Return

*Automatically calculated

Item Name 30 IgG C		Auto Rerun Condition (Absorbance)	
Auto Rerun SW		Absorbance Range	
● On ○ Off		Lower	○ On ● Off
Auto Rerun Range (Result)		Higher	○ On ● Off
○ On ● Off ● On ○ Off		Prozone Range	○ On ● Off
Lower Higher			
Serum	Cal 1 # Cal 6 #		
Urine			
Plasma			
CSF			
Dialysis			
Other			
Bottle Size (ml)			
24 Items	36 Items		
Reagent1	60	Reagent1	0
Reagent2 R1	10.9	Reagent2 R1	0
Reagent2 R2	1.9	Reagent2 R2	0
Page : 3 Print		Prev Page	Save Return

N.B. The calibrator (Standard #) and high absorbance limit (High #) values to be entered on Pages: 1 and 2 are found on the Quality Control Certificate (SIN213.QC). The calibrator values should be entered in ascending order, i.e. lowest value first.

12 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

12.1 Precision

A study was performed following CLSI *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline* (CLSI Document EP5-A2). The study was performed over 5 working days, with two runs per day. One user assessed three different samples using one reagent lot on one analyser.

	IgG CSF Precision Summary									
	Mean (mg/L)	Within run			Between run			Total		
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	
Sample 1	125.533	1.3	1.0	6.2	4.9	0.0	0.0	6.3	5.0	
Sample 2	31.707	0.3	0.9	1.6	5.0	2.0	6.4	2.6	8.2	
Sample 3	7.447	0.1	1.6	0.4	5.5	0.2	3.3	0.5	6.6	

12.2 Comparison

A correlation study was performed on 96 CSF samples (35 normal CSF and 61 clinical CSF) using this kit on a SPAPLUS and an alternative commercially available IgG CSF assay. The study demonstrated the following Passing Bablok plot:

$$y = 1.05x - 0.27 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{SPAPLUS IgG CSF}; x = \text{alternative assay})$$

$$\text{correlation coefficient } r = 0.983 \quad (\text{calculated by linear regression})$$

12.3 Limit of Detection and Limit of Quantitation

Based on CLSI document EP17-A2 - *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline* the limit of detection represents the lowest measurable analyte level that can be distinguished from zero. This has been estimated at 0.69mg/L (n = 60).

The limit of quantitation has been calculated as 4.46mg/L (n=60) based on one lot at a 1/1 sample dilution.

12.4 Linearity

A linearity study was performed following CLSI (formerly NCCLS) *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures* document EP6-A. One user assessed the linearity of a diluted high level pool of samples using one lot of reagent on one analyser. This gave a regression plot of $y = 0.9996x - 0.4893\text{mg/L}$ (y = measured IgG CSF concentration, x = theoretical concentration) over the range of 6.88 – 135.65mg/L.

12.5 Interference

No significant assay interference by 100mg/L bilirubin, 2.5g/L haemoglobin, 200mg/L acetaminophen and 600mg/L aspirin has been demonstrated at the minimum sample dilution (1/1).

	Bilirubin	Hb	Acetaminophen	Aspirin
Mean IgG (mg/L)	32.1	30.1	32.1	31.8
% interference	-2.59	-3.12	0.17	1.95

Bacterial interference has not been assessed (see section 10.7).

12.6 Antigen excess

No antigen excess was observed to a level of five times the top point of the assay; approximately 700mg/L.

13 BIBLIOGRAPHY

- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2001;184:101-22.
- Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, Siede WH. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 May;111(4):313-8.
- Wu AHB, ed. *Tietz Clinical guide to laboratory tests*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2006: 606.
- Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In Thomas L (Ed.) *Clinical laboratory diagnosis*, TH-books, Frankfurt/Main 1998; 1308-26.

IMPORTANT: the analyser will automatically calculate and enter the correct measuring ranges on Item pages 3 and 4 providing the **ENTER** button is pressed after typing the value for calibrator 6 on Page: 1. View Item parameter page 4 to ensure correct value entry.

8.4.2 Sample probe wash

To protect against any potential carry-over on the sample probe a sample probe wash must be programmed.

- 8.4.2.1 Click on **System** in the SPAPLUS software's Main Screen.
- 8.4.2.2 Select **Sys Para** from the drop down menu.
- 8.4.2.3 Select **Item** for the sample probe wash type and click **Save**. Click **OK** to save and **Exit** to return to the Main Screen.
- 8.4.2.4 Click on **System** in the SPAPLUS software's Main Screen.
- 8.4.2.5 Select **Sample Probe Wash** from the drop down menu.
- 8.4.2.6 Select **Item by item setting** and enter the parameters as below:

Sample Probe Wash (Item)			
Item 1	Item 2	Wash	
All clear	Line clear	W2	Update
			Exit

- 8.4.2.7 Click **Update** and **OK** to save the information and **Exit** to return to the Main Screen.

8.4.3 Calibration parameters

To protect against any potential carry-over on the sample probe from preceding assays six blank replicates must be programmed for the calibration curve.

Calibration Parameter							
CH ODR	ITEM#	Name	BLK ODR	Re CAL	BLK	STD-1	STD-2
1	30	IgG C			B1-6	S1-1	S2-1
<input type="checkbox"/>	Graph	030					
Order All						Update	Exit

8.4.4 Control volumes

For each control transfer 120µL into a sample cup and place on the rack.

8.4.5 Running controls and patient samples

Important: controls must be placed on the sample rack and not on the calibrator rack. If this is not followed the sample probe wash will not be activated.

- 8.4.5.1 Before placing the loaded sample rack onboard the analyser, fill a sample cup with 1.5mL of 2% alkaline wash solution (working dilution) and place into position W2 on the sample rack (W1 for albumin CSF). When sample testing is complete, discard the sample cup from the W2 position.
- 8.4.5.2 When ordering samples select the appropriate specimen type for each sample.

Note: After running CSF samples the 'sample type' in the **Order** screen will default to CSF. Ensure that 'specimen type' is changed as appropriate when manually ordering the next serum/urine sample.

8.5 Measuring range

The approximate measuring range of the assay is shown in the table below.

Specimen type	Analyser dilution	Approximate range mg/L
CSF	1/1	4.2 – 135
	1/10	42 - 1350

9 QUALITY CONTROL

The controls provided should be included in all assay runs. The IgG concentration is stated on the accompanying Quality Control Certificate (SIN213.QC). Sample results obtained should only be accepted if the control results are within ±15% of the concentration(s) stated.

10 LIMITATIONS

- Turbidimetric assays are not suitable for measurement of highly lipaemic or haemolysed samples or samples containing high levels of circulating immune complexes (CICs) due to the unpredictable degree of non-specific scatter these sample types may generate. Unexpected results should be confirmed using an alternative assay method.
- This assay has not been validated using paediatric samples.
- Should a control measurement be out of range when assayed with a stored curve the assay must be recalibrated. If on recalibration the control values measured with the new curve are still out of range, the instrument and the assay parameters should be checked before repeating the assay. If problems persist, refer to supplier.
- Diagnosis cannot be made and treatment must not be given on the basis of IgG measurements alone. Clinical history and other laboratory findings must be taken into account.
- Variation in reagent temperature may affect results. Ensure that reagents are transferred directly from the refrigerator to the refrigerated reagent compartment of the analyser – do not allow to warm to room temperature.
- Carry-over may occur in conditions where IgG levels are grossly elevated in sera e.g. with sera from multiple myeloma patients. Testing of such elevated samples should be isolated from CSF IgG testing.
- Bacterial interference has not been assessed. CSF samples should be as fresh as possible to limit bacterial growth and all samples must be centrifuged prior to testing (see section 7).

11 EXPECTED VALUES

The ranges provided have been obtained from a limited number of adult samples and are intended for guidance purposes only. Wherever possible it is strongly recommended that each facility should determine its own reference intervals since values may vary depending on the individual population studied.

Reference interval for IgG in CSF: <34mg/L (after conversion to DA470k).⁴

Reference values in the true sense only exist for the CSF/serum ratio.^{1,4}

IgG Kit für Liquor (CSF) zur Verwendung auf dem SPAPLUS

Nur zur *in-vitro* Diagnostik

Bestell-Nr.: NK004.L.S

Hergestellt von:

The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk

Vertrieb in Deutschland, Österreich und der Schweiz durch:

The Binding Site GmbH, Robert-Bosch-Straße 2A
D-68723 Schwetzingen, Deutschland

Telefon: +49 (0) 6202 92 62 0

Fax: +49 (0) 6202 92 62 222

e-mail: office@bindingsite.de



1 VERWENDUNGSZWECK

Das Humane IgG Kit für Liquor (CSF) zur Verwendung auf dem SPAPLUS dient zur quantitativen Bestimmung von humanem IgG im Liquor (Cerebrospinalflüssigkeit, CSF) auf dem SPAPLUS Analyser. Die Messung dieses Immunglobulins trägt unter zur Hilfenahme von weiteren klinischen Befunden und Laborwerten dazu bei, die mangelnde Fähigkeit des Körpers, einer infektiösen Erkrankung zu widerstehen, nachzuweisen.

2 EINLEITUNG

Serum ist der vorherrschende Bildungsort der sich im Liquor befindlichen Proteine, deren Konzentration durch die Permeabilität der Blut/Liquor-Schranke und den Liquorfluss reguliert wird. Eine Erhöhung der Protein-Konzentration im Liquor kann auf eine Störung der Schrankenfunktion bzw. eine lokale (intrathekale) Immunglobulin (Ig)-Synthese im Zentralnervensystem (ZNS) hinweisen¹. Dies kann durch die Messung der Konzentrationen von Albumin, IgG, IgA und IgM im Serum und Liquor untersucht werden.

Sich im Liquor befindliches Albumin stammt ausschließlich aus dem Blut, sodass der Albumin-Liquor/Serum-Quotient zur Bestimmung der Schrankenfunktion herangezogen werden kann. Durch die Berechnung der Liquor/Serum-Quotienten und den Vergleich der Ig-Quotienten mit dem Albumin-Quotienten kann zwischen aus dem Serum stammendem Ig oder intrathekalen Ig-Synthese differenziert werden.

Die Beurteilung der Schrankenfunktion, intrathekalen Ig-Synthese und anderer Liquor-Analyte kann bei der Diagnose einer Vielzahl von verschiedenen ZNS-Erkrankungen hilfreich sein^{1,2}.

3 TESTPRINZIP

Zur turbidimetrischen Bestimmung eines löslichen Antigens wird die zu testende Probe in eine Küvette, die den entsprechenden Antikörper enthält, gegeben. Beim Fortschreiten der Antigen-Antikörper-Reaktion, bei der unlösliche Immunkomplexe gebildet werden, wird das in die Küvette eingestrahlte Licht zunehmend gestreut. Auf der Photodiode wird das transmittierte Licht fokussiert und die Intensitätsabnahme des eingestrahlichten Lichts gemessen. Die Menge des durchfallenden Lichts ist indirekt proportional zu der spezifischen Proteinkonzentration der getesteten Probe. Die Konzentration wird automatisch nach der Messung anhand einer im Gerät gespeicherten Kalibrationskurve berechnet.

4 REAGENZIEN

4.1 IgG Antiserum (Liquor): Dieses Antiserum ist monospezifisch für IgG und liegt als stabilisierte Flüssigkeit vor. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,099% Natriumazid, 0,1% E-aminocaproinsäure (EACA) und 0,01% Benzamidin.

4.2 Kalibratoren und Kontrollen: Sie werden aus gepooltem Humanerum hergestellt und liegen als stabilisierte Flüssigkeiten vor. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,099% Natriumazid, 0,1% EACA und 0,01% Benzamidin. Die auf dem QC-Zertifikat angegebene IgG-Konzentration wurde durch Vergleich mit dem internationalen Referenzmaterial DA470k erhalten.

4.3 Reaktionspuffer: Enthaltene Konservierungsmittel: 0,099% Natriumazid.

5 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

Das Ausgangsmaterial zur Erstellung der Kalibratoren und Kontrollen stammt aus menschlichem Blut. Jede Einzelspende wurde bezüglich Antikörpern gegen Human-Immunschwäche-Virus (HIV 1 & 2), Hepatitis-C-Virus und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAG) mit in der EU zugelassenen Kits (Direktive 98/79/EC, Annex II) oder von der FDA (USA) zugelassenen Kits untersucht und als negativ befunden. Es gibt aber zurzeit keine absolut sicheren Testmethoden zum Ausschluss von HIV, Hepatitis-C-Virus, Hepatitis-B-Virus und anderen Infektionsträgern. Deshalb sollten die Reagenzien als potentiell infektiös behandelt werden. Umgang- und Entsorgungsmethoden sollten denen von potentiell infektiösem Material entsprechen und der Test nur von entsprechend geschultem Personal durchgeführt werden.

WARNUNG: Dieses Produkt enthält Natriumazid und muss mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden. Immer geeignete Handschuhe und andere Schutzkleidung während des Gebrauchs dieses Produkts tragen. Verschlucken sowie Kontakt mit der Haut (besonders bei beschädigter Haut oder offenen Wunden) oder Schleimhäuten vermeiden. Nach Kontakt Hautstelle mit viel Wasser abspülen und ärztlichen Rat einholen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren explosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung mit ausreichender Menge Wasser nachspülen um Azidablagerungen zu vermeiden.

Dieser Test sollte nur für den angegebenen Verwendungszweck von entsprechend geschultem Labpersonal durchgeführt werden. Die Einhaltung der Arbeitsanleitung bei allen Arbeitsschritten ist dringend notwendig. Bei Verwendung von abgeänderten Testparametern kann die Richtigkeit der Ergebnisse nicht garantiert werden.

Reagenzien unterschiedlicher Chargen dürfen NICHT untereinander gemischt oder gemeinsam verwendet werden. Bei großem Testdurchsatz muss darauf geachtet werden, dass alle Reagenzien der gleichen Charge entstammen.

6 LAGERUNG UND STABILITÄT

Das ungeöffnete Kit ist bei 2-8°C bis zum auf dem Außenetikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. NICHT EINFRIEREN! Humanes IgG-Antiserum, Reaktionspuffer, Kalibratoren und Kontrollen können nach dem Öffnen für zwei Monate im Kühlschrank bei 2-8°C aufbewahrt werden, vorausgesetzt, die Gefäße werden nach jeweiligem Gebrauch wieder mit dem Deckel verschlossen, um Verdunstung oder Verunreinigung zu vermeiden. Das humane IgG-Antiserum und der Reaktionspuffer können auch ohne Deckel bei 8-12°C bis zu 30 Tage im SPAPLUS-Analyser gelagert werden, solange die Kühlung angeschaltet ist. (Hauptstromschalter bleibt immer auf Position an).

7 PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Verwendbare Proben sind humaner Liquor, die so frisch wie möglich getestet werden sollten.

Liquor-Proben können bei 2-8°C bis zu 7 Tage, bei -20°C bis zu 6 Monate gelagert werden³. Die Proben müssen vor der Messung zentrifugiert werden.

8 TESTDURCHFÜHRUNG

8.1 Gelieferte Materialien

- 8.1.1 1 x 60 Tests Human IgG CSF Antiserum SPAPLUS (Antiserum)
- 8.1.2 1 x Human IgG CSF SPAPLUS Calibrator-Set 1-6 (6 x 1.0mL Kalibrator Set)
- 8.1.3 2 x 1,5mL Combined CSF SPAPLUS High Control (Kontrolle 'High-Level')
- 8.1.4 2 x 1,5mL Combined CSF SPAPLUS Low Control (Kontrolle 'Low-Level')
- 8.1.5 1 x 60 Tests IgG CSF Reaction Buffer SPAPLUS (Reaktionspuffer)

8.2 Benötigte, nicht im Kit enthaltene Materialien

- 8.2.1 Laborausstattung zum Sammeln und Vorbereiten der Proben (Probenröhrchen, Zentrifugen etc.)
- 8.2.2 Einen vollausgestatteten und funktionsfähigen SPAPLUS Analyser.
- 8.2.3 Aktuelle Geräte-Bedienungsanleitung: SPAPLUS Bedienungsanleitung, FIN012.
- 8.2.4 Probendiluent (99: Dil 1) Bestell Nr.: SN080.S
- 8.2.5 2%ige alkalische Waschlösung (Gebrauchslösung)

8.3 Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien vorsichtig schwenken bevor sie ins Gerät gestellt werden. Dabei Schaum- und Blasenbildung vermeiden, da dies Störungen beim Pipettieren verursachen kann.

8.4 Testdurchführung

Der Anwender sollte mit dem SPAPLUS Analyser vertraut sein, bevor der Test durchgeführt wird. Das Gerät, wie im Handbuch des Herstellers beschrieben, vorbereiten. Die Testparameter werden wie nachfolgend aufgeführt eingegeben:

Eine ausführliche Beschreibung entnehmen Sie der SPAPLUS Bedienungsanleitung (FIN012), die mit dem Gerät geliefert wird.

8.4.1 Test Parameter

Die Testparameter werden unter Item Nummer 30 eingegeben.

Item Name 30 IgG C		CALIBRATION	
DATA INFORMATION			
Units	mg/L	Type	Spline 1 ▼
Decimals	2	Standard	
		1 #	4 #
		2 #	5 #
		3 #	6 #
ANALYSIS			
Type	End ▼		
Main W.Length 1	340 ▼		
Sub W.Length	▼		
NORMAL RANGE			
Method		LOW	HIGH
		MALE	FEMALE
		LOW	HIGH
		[]	[]
		[]	[]
		[]	[]
		[]	[]
		[]	[]
		[]	[]
		[]	[]
		[]	[]
CORR.			
Y =	1	X + 0	
SLOPE INTER			
Page : 1 Print Hard Copy Next Page Save Return			

Item Name 30 IgG C		DATA PROCESS	
READ			
ASPIRATION		START	END
KIND	Single	MAIN	53 54
	• Double	SUB	30 31
		LOW	-3.0
		HIGH	#
VOLUME			
SAMPLE	30	FACTOR	
REAGENT1 VOL	170 µL	Reaction Check	
REAGENT2 VOL	20	Blank correction * 0 ON • OFF	
		ENDPOINT LIMIT 2.0 CHECK POINT	
		LINEAR CHECK (%) 0 LOW 3	
		HIGH 3	
DILUTION			
Diluent		99: Dil 1	100: Dil 2
Pre Dilution Rate			
Auto Rerun Dilution Rate High	10		
Auto Rerun Dilution Rate Low			
PROZONE CHECK			
MONITOR			
0 LEVEL SPAN 1		START	END
SPAN	3.0	LIMIT (%)	
FIRST	[]	[]	[]
SECOND	[]	[]	[]
THIRD	[]	[]	[]
		Low	High
		Low	High
Page : 2 Print Hard Copy Prev Page Next Page Save Return			

*Automatisch berechnet

Item Name 30 IgG C		Auto Rerun SW		Auto Rerun Condition (Absorbance)	
Auto Rerun Range (Result)					
Absorbance Range					
Lower Higher • On • Off					
Prozone Range • On • Off					
Serum					
Urine					
Plasma					
CSF					
Dialysis					
Other					
Bottle Size (ml)					
24 Items 36 Items					
Reagent1	60	Reagent1	0		
Reagent2 R1	10.9	Reagent2 R1	0		
Reagent2 R2	1.9	Reagent2 R2	0		
Page : 3 Print Prev Page Save Return					

Hinweis: Die Kalibratorkonzentration (Standard #) und die Werte für die hohe Absorptionsgrenze (Absorbance Limit High #) sind auf dem Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN213.QC) angegeben und werden auf **Page 1 und 2** eingegeben. Die Kalibratorkonzentrationen in aufsteigender Reihenfolge eingeben, d.h. den niedrigste Wert zuerst eingeben
Wichtig: Das Gerät berechnet automatisch die korrekten Messbereiche, die auf der 3. und 4. 'Item'-Seite erscheinen. **Dazu muss nach Eingabe von Kalibrator 6 die ENTER-Taste gedrückt werden.** Die Richtigkeit der Eingaben können auf der Parameter Seite 4 überprüft werden.

8.4.2 Reinigung der Probenadel

Zum Schutz gegen jegliche potentielle Verschleppung durch die Probenadel muss ein Probenadel-Reinigungsschritt programmiert werden.

- 8.4.2.1 Klicken Sie auf **System** im Hauptmenü der SPAPLUS Software.
- 8.4.2.2 Wählen Sie **Sys Para** aus dem Pull-down-Menü.
- 8.4.2.3 Wählen Sie **Item** im Feld 'sample probe wash type' und drücken Sie **Save**. Klicken Sie auf **OK** um zu speichern und **Exit** um zum Hauptmenü zurückzukehren.
- 8.4.2.4 Klicken Sie auf **System** im Hauptmenü der SPAPLUS Software.
- 8.4.2.5 Wählen Sie **Sample Probe Wash** aus dem Pull-down-Menü.
- 8.4.2.6 Wählen Sie **Item by item setting** und geben Sie die Parameter wie folgt ein:

Sample Probe Wash (Item)		
Item 1	Item 2	Wash
All clear	030:lgG C	W2
	Line clear	Update
		Update
		Exit

8.4.2.7 Klicken Sie **Update** und **OK** um die Eingabe zu bestätigen und **Exit**, um zum Hauptmenü zurückzukehren.

8.4.3 Kalibrations-Parameter

Zum Schutz gegen jegliche potentielle Verschleppung aus vorherigen Messungen durch die Probenadel, müssen für die Kalibrationskurve sechs Blindwertmessungen programmiert werden.

Calibration Parameter							
CH ODR	ITEM#	Name	BLK ODR	Re CAL	BLK	STD-1	STD-2
1	30	lgG C			B1 - 6	S1 - 1	S2 - 1
	Graph	030					
						Update	Exit

8.4.4 Volumen der Kontrollen

Von jeder Kontrolle werden 120µL in ein Probengefäß überführt und auf dem Probenrack platziert.

8.4.5 Messung von Kontrollen und Patientenproben

Wichtig: Kontrollen müssen auf dem Probenrack und nicht auf dem Kalibratorrack platziert werden. Wenn dies nicht erfolgt, kann die Probenadelreinigung nicht gestartet werden.

- 8.4.5.1 Füllen Sie ein Probengefäß mit 1,5mL der 2%igen alkalischen Waschlösung und platzieren dies in Position W2 (Position W1 für Albumin-Liquor) auf dem Probenrack, bevor das bestückte Probenrack in den Analyser gestellt wird. Verwerfen Sie das Probengefäß der W2-Position, wenn die Messung beendet ist.
- 8.4.5.2 Bei der Probenanforderung muss das entsprechende Probenmaterial ausgewählt werden.

HINWEIS: Nach der Messung von Liquor-Proben bleibt im **Order** Menü die 'specimen type' (Probenmaterial)-Einstellung: CSF bestehen. Stellen Sie sicher, dass diese Einstellung auf das Material der nächsten Probe geändert wird, wenn die nächste Serum- oder Urinprobe manuell angefordert wird.

8.5 Messbereiche

Der ungefähre Messbereich des IgG Assays ist in folgender Tabelle dargestellt:

Probenotyp	Geräteverdünnung	Ungefährer Messbereich
Liquor	1/1	4,2 – 135
	1/10	42 - 1350

9 QUALITÄTSKONTROLLE

Die im Kit enthaltenen Kontrollen sollten in jedem Testansatz mitgeführt werden. Die IgG-Konzentration ist auf dem im Kit mitgelieferten Kalibrator-/Kontrolldatenblatt (Product Data Sheet, SIN213.QC) angegeben. Probenergebnisse sollten nur dann verwendet werden, wenn die Kontrollergebnisse innerhalb des ±15% Bereichs der angegebenen Konzentrationen liegen.

10 GRENZEN DES TESTS

- 10.1 Turbidimetrische Tests sind nicht für die Bestimmung von lipämischen oder hämolysierten 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 wie z.B. der Radialen Immundiffusion.
- 10.2 Dieser Test wurde nicht mit pädiatrischem Probenmaterial validiert.
- 10.3 Es wird dringend empfohlen, dass bei jedem Testansatz beide Kontrollen mitgeführt werden. Wird eine gespeicherte Kalibrationskurve verwendet und eine der Kontrollen liegt nicht im Vertrauensbereich, sollte die Kalibration wiederholt werden. Weicht die Kontrolle nach Neu-Kalibration mehr als ±15% vom Sollwert ab, sollten das Gerät und die Testparameter überprüft werden. Kann das Problem so nicht gelöst werden, wenden Sie sich bitte an Ihre Lieferfirma.
- 10.4 Die Diagnose und die Einleitung einer Therapie dürfen nicht ausschließlich auf der IgG-Bestimmung basieren. Das klinische Bild und andere Labor-Befunde müssen ebenfalls berücksichtigt werden.
- 10.5 Schwankungen der Reagenztemperatur können die Messergebnisse beeinflussen. Stellen Sie sicher, dass die Reagenzien direkt aus dem Kühlschrank in den gekühlten Reagenzienbereich des Gerätes platziert werden. Die Reagenzien dürfen nicht auf Raumtemperatur erwärmt werden.
- 10.6 Verschleppung von Probenmaterial kann auftreten, wenn zuvor Proben mit einer extrem hohen IgG-Konzentration, wie z.B. Seren von Patienten mit Multiplem Myelom, gemessen werden. Die Messung solcher Proben sollte von der IgG-Messung im Liquor getrennt abgearbeitet werden.
- 10.7 Ein Einfluss von bakterieller Kontamination auf das Testergebnis wurde nicht untersucht. Um eine bakterielle Kontamination zu minimieren, sollten die Liquor-Proben so frisch wie möglich sein. Alle Proben müssen vor der Messung zentrifugiert werden (siehe Abschnitt 7).

11 ERWARTETE WERTE

Die unten aufgeführten Normalbereiche basieren auf der Untersuchung einer begrenzten Anzahl an Proben von Erwachsenen und dienen nur zur Orientierung. Es wird empfohlen eigene Normalbereiche zu bestimmen.

Referenzbereich für IgG im Liquor: <34mg/L (nach Standardisierung gegen DA470k).⁴

Referenzbereiche im eigentlichen Sinne existieren nur für den Liquor/Serum-Quotienten.^{1,4}

12 LEISTUNGSDATEN

12.1 Präzision

Die Präzisionsstudie wurde gemäß der Richtlinie 'CLSI Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline (CLSI Document EP5-A2)' durchgeführt. Die Studie wurde über fünf Werkstage mit zwei Analysenläufen pro Tag durchgeführt. Durch einen Anwender wurden drei verschiedene Proben mit einer Reagenz-Charge auf einem Analyser gemessen.

	Mittelwert (mg/L)	IgG-Liquor-Präzisions-Zusammenfassung				Tag zu Tag		Gesamt	
		In der Serie SD	VK %	Lauf zu Lauf SD	VK %	SD	VK %	SD	VK %
Probe 1	125,533	1,3	1,0	6,2	4,9	0,0	0,0	6,3	5,0
Probe 2	31,707	0,3	0,9	1,6	5,0	2,0	6,4	2,6	8,2
Probe 3	7,447	0,1	1,6	0,4	5,5	0,2	3,3	0,5	6,6

12.2 Methodenvergleich

Eine Vergleichsstudie mit 96 Liquor-Proben (35 normale Proben und 61 pathologische Proben) wurde zwischen diesem Kit am SPAPLUS und einem alternativen kommerziell erhältlichen Test durchgeführt. Diese Studie ergab eine Übereinstimmung mit der folgenden Passing Bablok Gleichung:

$$y = 1,05x - 0,27 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{SPAPLUS IgG CSF}; x = \text{alternativer Assay})$$

Korrelationskoeffizient $r = 0,983$ (durch lineare Regression berechnet)

12.3 Leerwert und Nachweisgrenzen

Basierend auf der Richtlinie, *CLSI document EP17-A2 – Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline*, stellt die Nachweisgrenze den niedrigsten zu messenden Wert des Analyten über Null dar. Dies wird bei einer Konzentration von 0,69mg/L (n = 60) angenommen.

Die Bestimmungsgrenze wurde mit einer Lot und einer 1/1-Probenverdünnung auf 4,46mg/L (n=60) bestimmt.

12.4 Linearität

Die Linearitätsstudie wurde gemäß der Richtlinie 'CLSI (vormals NCCLS) Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurements Procedures Document EP6-A' durchgeführt. Die Linearitätsmessungen wurden von einem Anwender mit einem Probenpool mit hoher Antigenkonzentration unter Verwendung einer Reagenzcharge an einem Analysensystem durchgeführt. Dies ergab folgende Regression: $y = 0,9996x - 0,4893 \text{ mg/L}$ (y = gemessene IgG Konzentration im Liquor, x = theoretische Konzentration) im Bereich von 6,88 - 135,65mg/L.

12.5 Interferenzen

Es konnten keine signifikanten Interferenzen durch 100mg/L Bilirubin, 2,5g/L Hämoglobin, 200mg/L Paracetamol und 600mg/L Aspirin in der minimalen Probenverdünnung (1/1) festgestellt werden.

	Bilirubin	Hb	Paracetamol	Aspirin
Mittelwert IgG (mg/L)	32,1	30,1	32,1	31,8
% Interferenz	-2,59	-3,12	0,17	1,95

Eine Interferenz durch bakterielle Kontamination wurde nicht untersucht (siehe Abschnitt 10.7).

12.6 Antigenüberschuss

Es wurde bei einer Konzentration, die 5-fach höher als die obere Messbereichsgrenze liegt (ca. 700mg/L) kein Antigenüberschuss beobachtet.

13 REFERENZEN

1. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. J Neurol Sci 2001;184:101-22.
2. Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, Siede WH. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. Clin Neurol Neurosurg. 2009 May; 111(4): 313-8.
3. Wu AHB, ed. Tietz Clinical guide to laboratory tests, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2006: 606.
4. Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In: Thomas L (Ed.) Clinical laboratory diagnosis, TH-books, Frankfurt/Main 1998; 1308-26.

Coffret de dosage IgG LCR sur SPAPLUS

Pour un usage en diagnostic *in vitro*

Référence: NK004.L.S

Produit fabriqué en Angleterre par la société :
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk

Distribué en France par la société :
The Binding Site France, 14 rue des Glairaux, CS 30026, 38522 Saint Egrève Cedex
Téléphone : 04.38.02.19.19
Fax : 04.38.02.19.20
E-mail : info@bindingsite.fr



1 INDICATIONS

Le coffret IgG LCR sur SPAPLUS est destiné à la quantification d'IgG humaines dans le liquide céphalorachidien (LCR) en utilisant l'automate SPAPLUS. La quantification de cette immunoglobuline en conjonction avec d'autres tests de laboratoires et signes cliniques peut aider à évaluer une incapacité de l'organisme à résister aux maladies infectieuses.

2 PRESENTATION GENERALE

Le sérum est la source prédominante des protéines présentes dans le LCR, dont les niveaux sont régulés par la perméabilité de la barrière sang/LCR et par le débit du LCR. Une augmentation du niveau des protéines dans le LCR peut être le signe d'un dysfonctionnement de la barrière sang/LCR et / ou de la synthèse locale (intrathécale) des immunoglobulines (Ig) dans le système nerveux central (SNC).¹ Ces paramètres peuvent être évalués par la mesure des concentrations sériques et dans le LCR en albumine, IgG, IgA et IgM.

Comme l'albumine dans le LCR provient exclusivement du sang, le rapport en albumine LCR/sérum fournit une mesure sur la fonctionnalité de la barrière. Le calcul du rapport LCR/sérum, et la comparaison des rapports des Ig LCR/sérum avec le rapport albumine LCR/sérum peut permettre de différencier les Ig sériques des Ig synthétisées intrathécalement.

L'évaluation de la fonctionnalité de la barrière, de la synthèse intrathécale et d'autres constituants du LCR peuvent être utile dans le diagnostic de certains désordres du SNC^{1,2}.

3 PRINCIPE

La détermination de concentrations en antigènes solubles par turbidimétrie implique une réaction avec un antisérum spécifique dans le but de former des complexes insolubles. Après le passage de la lumière à travers la suspension formée, une partie est transmise et concentrée sur une photodiode par un système de lentilles optiques. La quantité de lumière transmise est indirectement proportionnelle à la concentration en protéine spécifique de l'échantillon. Les concentrations sont calculées automatiquement grâce à une courbe de calibration enregistrée dans l'automate.

4 REACTIFS

- Antisérum IgG LCR:** Il a été adsorbé pour être monospécifique d'IgG et est fourni sous forme liquide stable. Il contient 0,099% d'azide de sodium, 0,1% d'EACA et 0,01% de benzamidine comme conservateurs.
- Calibrateurs et Contrôles:** Ils consistent en des mélanges de sérums humains et sont fournis sous forme liquide stable. Ils contiennent 0,099% d'azide de sodium, 0,1% d'EACA et 0,01% de benzamidine en tant que conservateurs. La concentration de IgG donnée sur le certificat de contrôle qualité a été obtenue par comparaison avec le matériel de référence internationale DA470K.
- Tampon de Réaction:** Il contient 0,099% d'azide de sodium en tant que conservateur.

5 PRECAUTIONS

Tous les donneurs de sérum humain fournis dans ce coffret ont été testés et trouvés négatifs pour l'antigène de surface de l'hépatite B (Ag HBs), pour les anticorps du virus de l'immunodéficience humaine (VIH1 et VIH2) et pour le virus de l'hépatite C, grâce à des tests approuvés par la FDA (USA) et l'UE (Directive 98/79/EC, Annexe II). Cependant, ces tests ne permettent pas de garantir l'absence d'agents infectieux. Des méthodes adaptées doivent être respectées pour la manipulation de produits présentant des risques potentiels d'infection, et seules des personnes qualifiées et informées devraient utiliser ces réactifs.

ATTENTION : Les composants du coffret contiennent de l'azide de sodium et doivent être manipulés avec précaution; porter des gants et des vêtements de protection tout le temps de la manipulation. Ne pas ingérer ou mettre en contact avec la peau (spécialement si elle est blessée) ou les muqueuses. En cas de contact, rincer à grande eau et consulter un médecin. Des azides de métaux explosifs peuvent se former en cas de contact prolongé de l'azide de sodium avec la plomberie en cuivre ou en plomb ; lors de l'élimination du réactif, rincer avec un grand volume d'eau afin de prévenir la formation d'azide.

Ce produit ne doit être utilisé que par du personnel convenablement formé au protocole établi. Il est conseillé de tenir compte des recommandations. La validité des résultats obtenus en utilisant d'autres paramètres que ceux énoncés ne peut être garantie.

Des réactifs provenant de lots de coffrets différents ne sont PAS interchangeables. Si un grand nombre de tests doit être réalisé, veuillez vous assurer que tous les réactifs proviennent du même lot.

6 STOCKAGE ET STABILITE

Les coffrets non ouverts doivent être conservés à 2-8°C et peuvent être utilisés jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du coffret. NE PAS CONGELER. L'antisérum IgG LCR humain, Tampon de Réaction, calibrateurs et contrôles d'IgG peuvent être conservés jusqu'à deux mois après ouverture, à condition qu'ils soient correctement fermés pour éviter l'évaporation et conservés à 2-8°C. L'antisérum IgG LCR humain et le Tampon de Réaction peuvent être conservés à 8-12°C ouverts, à bord du SPAPLUS jusqu'à 30 jours, à condition que l'interrupteur principal (situé du côté gauche, à l'arrière de l'appareil) reste sous tension.

7 PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON

Les échantillons appropriés sont le LCR humain aussi frais que possible. Les échantillons de LCR peuvent être conservés entre 2 et 8° C pendant 7 jours maximum et peuvent être congelés à -20°C pour une conservation jusqu'à 6 mois³. Les échantillons doivent être centrifugés avant le test.

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériel fourni

- 1 x 60 Tests *Human IgG CSF Antiserum SPAPLUS* (Antisérum IgG LCR humain SPAPLUS)
- 1 x *Human IgG CSF SPAPLUS Calibrator set 1-6* (6 x 1.0mL) (Lot de 6 calibrateurs IgG LCR humain SPAPLUS)
- 2 x 1,5mL *Combined CSF SPAPLUS High Control* (Contrôle haut combiné LCR humain SPAPLUS)
- 2 x 1,5mL *Combined CSF SPAPLUS Low Control* (Contrôle bas combiné LCR humain SPAPLUS)
- 1 x 60 Tests *IgG CSF Reaction Buffer SPAPLUS* (Tampon de réaction IgG LCR)

8.2 Matériel nécessaire mais non fourni

- Matériel pour le prélèvement et la préparation des échantillons ; ex : tubes échantillons, centrifugeuse... etc.
- Un automate SPAPLUS fonctionnel et équipé.
- Les instructions d'utilisation de l'appareil : Manuel d'utilisation SPAPLUS, (FIN012).
- Diluant échantillon (Sample Diluent 99; Dil 1) Référence : SN080.S
- Solution alcaline de lavage à 2%(Dilution de travail)

8.3 Préparation du réactif

Avant de charger le réactif, le mélanger doucement par retournement en s'assurant de ne pas générer de mousse ou de bulles qui pourraient interférer avec son aspiration.

8.4 Procédure

L'utilisateur doit être habitué à utiliser le SPAPLUS avant de tenter de paramétrer les procédures de test. L'appareil doit être préparé en suivant les instructions du fabricant et le protocole de test entré comme décrit ci-dessous.

Se référer au Manuel d'Utilisation SPAPLUS (FIN012) fourni avec l'appareil pour plus de détails sur son utilisation.

8.4.1 Programmation des paramètres

Les paramètres de test sont à entrer dans l'Item numéro 30.

Item Name	30 IgG C
DATA INFORMATION	
Units	mg/L
Decimals	2
ANALYSIS	
Type	End ▼
Main W.Length 1	340 ▼
Sub W.Length	▼
Method	
CORR.	
SLOPE	INTER
Y =	1 X + 0
CALIBRATION	
Type	Spline 1 ▼
Standard	
1 #	4 #
2 #	5 #
3 #	6 #
NORMAL RANGE	
	MALE FEMALE
	LOW HIGH LOW HIGH
Serum	[] [] [] []
Urine	[] [] [] []
Plasma	[] [] [] []
CSF	[] [] [] []
Dialysis	[] [] [] []
Other	[] [] [] []
Page : 1	Print Hard Copy
	Next Page Save Return

Item Name	30 IgG C
DATA PROCESS	
READ	ASPIRATION
START END	MAIN 53 54 LOW -3.0
SUB 30 31	HIGH #3
VOLUME	SAMPLE
KIND <input type="radio"/> Single <input checked="" type="radio"/> Double	30
REAGENT1 VOL	170 µL
REAGENT2 VOL	20
FACTOR	Reaction Check
Blank correction	<input type="radio"/> ON <input checked="" type="radio"/> OFF
ENDPOINT LIMIT	* CHECK POINT
LINEAR CHECK (%) 0	LOW -3
	HIGH 3
DILUTION	
Diluent	<input checked="" type="radio"/> 99: Dil 1 <input type="radio"/> 100: Dil 2
Pre Dilution Rate	▼
Auto Rerun Dilution Rate High	10
Auto Rerun Dilution Rate Low	▼
MONITOR	PROZONE CHECK
0 LEVEL SPAN 1	START END LIMIT (%)
SPAN 3.0	FIRST [] [] [] <input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High
	SECOND [] [] [] <input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High
	THIRD [] [] [] <input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High
Page : 2	Print Hard Copy
	Prev Page Next Page Save Return

* Calculé automatiquement

Item Name	30 IgG C
Auto Rerun SW	Auto Rerun Condition (Absorbance)
<input checked="" type="radio"/> On <input type="radio"/> Off	Absorbance Range
Auto Rerun Range (Result)	Lower <input type="radio"/> On <input checked="" type="radio"/> Off
<input type="radio"/> On <input checked="" type="radio"/> Off	Higher <input type="radio"/> On <input checked="" type="radio"/> Off
Serum Cal 1 #	Prozone Range <input type="radio"/> On <input checked="" type="radio"/> Off
Urine Cal 6 #	
Plasma	
CSF	
Dialysis	
Other	
Bottle Size (ml)	
24 Items	36 Items
Reagent1 60	Reagent1 0
Reagent2 R1 10.9	Reagent2 R1 0
Reagent2 R2 1.9	Reagent2 R2 0
Page : 3	Print
	Prev Page Save Return

N.B: Les valeurs des Calibrateurs (Standard #) et des limites hautes d'absorbance (High #) à saisir en Pages: 1 et 2 se trouvent sur le Certificat de Contrôle Qualité (SIN213.QC). Les valeurs des Calibrateurs doivent être saisies en ordre ascendant, c-à-d la plus petite valeur en premier.

IMPORTANT: l'appareil calculera et entrera automatiquement les gammes de mesure en pages 3 et 4 à condition d'appuyer sur ENTREE après avoir entré la valeur du calibrateur 6 en Page 1. Vous pouvez vous assurer que les valeurs ont été prises en compte en consultant la page 4 des paramètres.

12 CARACTERISTIQUES ET PERFORMANCES

8.4.2 Lavage de l'aiguille échantillon

Pour éviter tout risque d'accroche non spécifique liée à l'aiguille de prélèvement des échantillons, un lavage de l'aiguille échantillon doit être programmé.

- 8.4.2.1 Cliquer sur **System** dans l'écran principal du logiciel SPAPLUS.
- 8.4.2.2 Sélectionner **Sys Para** à partir du menu déroulant.
- 8.4.2.3 Sélectionner **Item** pour le lavage de l'aiguille échantillon et cliquer sur **Save**. Cliquer sur **OK** pour sauvegarder et **Exit** pour retourner à l'écran principal.
- 8.4.2.4 Cliquer sur **System** dans l'écran principal du logiciel du SPAPLUS.
- 8.4.2.5 Sélectionner **Sample Probe Wash** à partir du menu déroulant
- 8.4.2.6 Sélectionner **Item by item setting** et entrer les paramètres ci-dessous :

Sample Probe Wash (Item)			
Item 1	Item 2	Wash	
All clear ▼	030:IgG C ▼	W2	Update ▼
		Line clear	Exit

- 8.4.2.7 Cliquer sur **Update** et **OK** pour sauvegarder les informations et faire **Exit** pour retourner à l'écran principal.

8.4.3 Paramètres de Calibration

Pour prévenir tout risque d'accroche non spécifique sur l'aiguille échantillon des anciens paramètres, six blancs répétés doivent être programmés pour la courbe de calibration.

Calibration Parameter							
CH ODR	ITEM#	Name	BLK ODR	Re CAL	BLK	STD-1	STD-2
1	30	IgG C	□	□	B1 - 6	S1 - 1	S2 - 1
□	Graph	030					
Order All		Update		Exit			

8.4.4 Volumés des contrôles

Transférer 120µL de contrôle dans une cupule échantillon et la placer sur le portoir.

8.4.5 Lancement d'échantillons de contrôles et de patients.

Important: Important: les contrôles doivent être placés sur le portoir échantillon et non sur le portoir calibrateur. Si ce n'est pas suivi, le protocole de lavage de l'aiguille de prélèvement ne sera pas activé.

- 8.4.5.1 Avant de placer le portoir échantillon avec les contrôles sur l'analyseur, remplissez une cupule échantillon avec 1,5mL de solution de lavage alcaline à 2% (dilution de travail) et la placer à la position W2 sur le portoir échantillon (Position W1 pour l'albumine du LCR). Lorsque le test de l'échantillon est terminé, jetez la cupule de la position W2.
- 8.4.5.2 Lors du choix des tests à effectuer, sélectionner le type d'échantillon approprié pour chaque tube.

NB: Après avoir testé un échantillon de LCR, le «sample type» par défaut dans l'écran **Order** sera LCR. Assurez-vous qu'il soit modifié lors du prochain test de sérum/urine.

8.5 Gamme de mesure

La gamme de mesure approximative de ce test est donnée dans le tableau ci-dessous.

Type d'échantillon	Dilution de l'automate	Gamme de mesure approximative (mg/L)
LCR	1/1	4,2 - 135
	1/10	42 - 1350

9 CONTROLE QUALITE

Les contrôles fournis doivent être utilisés dans chaque série. Les concentrations des contrôles sont indiquées sur le certificat de contrôle de qualité du coffret (SIN213.QC). Les résultats obtenus pour les échantillons ne doivent être acceptés que si les contrôles sont dans une gamme de ±15% par rapport à la concentration cible.

10 LIMITATIONS

- 10.1 Les tests turbidimétriques ne sont pas appropriés pour le dosage des échantillons fortement lipidiques, hémolysés ou contenant un fort taux de complexes immuns circulants (CIC) à cause du degré d'imprévisibilité de déviation de lumière non spécifique intrinsèque à ce type d'échantillons. Des résultats inattendus doivent être confirmés par une autre méthode (ex : immunodiffusion radiale).
- 10.2 Ce test n'a pas été validé pour des échantillons pédiatriques.
- 10.3 Si le résultat d'un contrôle est en dehors des valeurs attendues le test doit être recalibré. Si le contrôle est toujours en dehors de la gamme après la recalibration, l'appareil et les paramètres du test doivent être vérifiés avant de relancer le test. Si les problèmes persistent, veuillez contacter votre fournisseur.
- 10.4 Le diagnostic ne peut être fait et le traitement donné, uniquement sur la base des résultats en IgG. L'historique clinique et d'autres tests doivent être pris en compte.
- 10.5 Des variations de température des réactifs peuvent affecter les résultats. S'assurer que les réactifs soient transférés directement du réfrigérateur au compartiment réfrigéré de l'automate – ne pas laisser se réchauffer à température ambiante.
- 10.6 Des contaminations croisées peuvent arriver dans des conditions où les niveaux d'IgG sont élevés, cas des sérums de patients à myélome multiple. Le dosage de tels échantillons devrait être fait séparément du dosage des IgG contenues dans le LCR.
- 10.7 Les interférences bactériennes n'ont pas été évaluées. Les échantillons LCR devraient être aussi frais que possible pour limiter la croissance bactérienne. Tous les échantillons doivent être centrifugés avant d'être testés (voir section 7).

11 VALEURS ATTENDUES

Les gammes fournies ont été obtenues à partir d'un nombre limité d'échantillons d'adultes et sont destinées à être utilisées comme guide uniquement. Dans la mesure du possible il est fortement recommandé d'établir ses propres gammes.

Intervalle de référence pour l'IgG dans le LCR: <34mg/L (après conversion avec le DA470k).⁴

Les valeurs de référence au vrai sens du terme, n'existent que pour le rapport LCR/sérum.^{1,4}

12.1 Précision
Une étude a été effectuée en suivant le CLSI *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline* (CLSI Document EP5-A2). Cette étude a été réalisée sur 5 jours, avec deux séries par jour. Un utilisateur a évalué trois échantillons différents à l'aide d'un lot de réactifs sur un automate.

	Précision du coffret IgG LCR								
	Moyenne (mg/L)	Intra-essais		Inter-essais		Inter jour		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Sérum 1	125,533	1,3	1,0	6,2	4,9	0,0	0,0	6,3	5,0
Sérum 2	31,707	0,3	0,9	1,6	5,0	2,0	6,4	2,6	8,2
Sérum 3	7,447	0,1	1,6	0,4	5,5	0,2	3,3	0,5	6,6

12.2 Comparaison

Une étude de corrélation a été réalisée en testant 96 échantillons de LCR (35 normaux et 61 pathologiques) en utilisant ce coffret sur le SPAPLUS et un autre coffret commercial disponible. Cette étude a démontré le graphique de Passing Bablok suivant:

$$y = 1.05x - 0.27 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{SPAPLUS IgG LCR}; x = \text{test alternatif})$$

$$\text{Coefficient de corrélation } r = 0.983 \quad (\text{calculé par régression linéaire})$$

12.3 Limite de détection et limite de quantification

Basée sur le document *CLSI document EP17-A2 – Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline*, la limite de détection correspond à la plus faible concentration d'analyte mesurable distincte de zéro. Elle a été calculée comme étant 0,69mg/L (n = 60).

La limite de quantification du test a été définie : 4,46mg/L (n=60) basée sur un lot et à la dilution échantillon au 1/1.

12.4 Linéarité

Une étude de linéarité a été effectuée en suivant le NCCLS *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures* document EP6-A. Un utilisateur a évalué la linéarité d'un pool d'échantillons dilué de haut niveau en utilisant un lot de réactif sur un analyseur. Cela a donné la courbe de régression $y = 0.9996x - 0.4893\text{mg/L}$ (y = concentration en IgG LCR mesurée, x = concentration théorique) sur la gamme de 6,88-135,65mg/L.

12.5 Interférence

A la dilution échantillon minimale (1/1), il n'a été démontré aucune interférence significative avec 100mg/L de bilirubine, 2,5 g/L d'hémoglobine, 200mg/L de paracétamol et 600 mg/L d'Aspirine

	Bilirubine	Hb	Paracétamol	Aspirine
Moyenne IgG (mg/L)	32,1	30,1	32,1	31,8
% interférence	-2,59	-3,12	0,17	1,95

Aucune interférence bactérienne n'a été évaluée (voir section 10.7)

12.6 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène a été observé pour 700mg/L soit approximativement trois fois la concentration supérieure du test.

13 BIBLIOGRAPHIE

- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2001;184:101-22.
- Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, Siede WH. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 May; 111(4):313-8.
- Wu AHB, ed. Tietz Clinical guide to laboratory tests, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2006: 606.
- Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In: Thomas L (Ed.) *Clinical laboratory diagnosis*, TH-books, Frankfurt/Main 1998; 1308-26.

Kit IgG en LCR Humano para uso en SPAPLUS

Para uso diagnóstico *in-vitro*

Código de Producto: NK004.L.S

Producto fabricado por:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
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



1 APLICACIÓN

El kit IgG en LCR humano para uso en SPAPLUS está preparado para la cuantificación de IgG humana en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) utilizando el analizador SPAPLUS. El análisis de esta inmunoglobulina, junto con otras determinaciones clínicas y de laboratorio, es de gran ayuda para la evaluación de la falta de capacidad del organismo para oponer resistencia a enfermedades infecciosas.

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 la barrera y/o una síntesis local (intratecal) de inmunoglobulinas (Ig) en el sistema nervioso central (SNC)¹. Estos parámetros se pueden evaluar mediante la determinación de las concentraciones de albúmina, IgG, IgA e IgM en suero y LCR. Dado que la albúmina presente en LCR proviene exclusivamente de la sangre, el ratio LCR/suero proporciona la determinación de la funcionalidad de la barrera. El cálculo de los ratios LCR/suero y la comparación de los ratios de Ig con el valor de albúmina en LCR/suero ayuda a diferenciar la IgG derivada de suero y la síntesis intratecal de Ig. La evaluación de la función de la barrera, la síntesis intratecal y otros análitos variables en LCR puede ayudar al diagnóstico de una serie de trastornos del SNC^{1,2}.

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 **Antisuero IgG LCR:** Ha sido adsorbido para conseguir la mono-especificidad para IgG. Se suministra en forma líquida estabilizada. Contiene azida sódica 0,099%, EACA 0,1% y benzamidina 0,01% como conservantes.
- 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 de IgG 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 tests de screening para donantes, resultando negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y a la presencia de anticuerpos frente a los virus HIV1, HIV2 y HCV usando técnicas aprobadas por la UE (Directiva 98/79/EC, Anexo II) y la FDA (USA). 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 y los procedimientos deben ser accesibles sólo a personal experto y autorizado.

AVISO: Este kit contiene azida sódica debe manipularse con precaución; use 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.

El presente producto debe ser utilizado por personal especializado. 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. En caso de realizar un número elevado de tests, averigüe que todos los reactivos sean del mismo lote.

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. NO CONGELAR. El antisuero IgG LCR humano, buffer de reacción, calibradores y controles pueden conservarse durante dos meses a 2-8°C después de la apertura, tomando precauciones para evitar la evaporación y el riesgo de contaminación. El Antisuero IgG LCR Humano y el buffer de reacción se pueden conservar, a 8-12°C sin proteger, hasta 30 días en el analizador SPAPLUS, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación (situado en la parte posterior del panel izquierdo).

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Deben utilizarse muestras de LCR humano y. Se deben analizar lo antes posible tras la extracción. 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 o temperatura inferior hasta un máximo de 6 meses.³ Las muestras se deben centrifugar antes del análisis.

8 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 60 Tests *Human IgG CSF Antiserum SPAPLUS* (Antisuero IgG en LCR humano para uso en SPAPLUS)
- 8.1.2 1 x *Human IgG CSF SPAPLUS Calibrator set 1- 6* (6 x 1.0mL) (Conjunto de calibradores IgG en LCR humano para uso en SPAPLUS)
- 8.1.3 2 x 1,5mL *Combined CSF SPAPLUS High Control* (Control alto en LCR humano combinado para uso en SPAPLUS)
- 8.1.4 2 x 1,5mL *Combined CSF SPAPLUS Low Control* (Control bajo en LCR humano combinado para uso en SPAPLUS)
- 8.1.5 1 x 60 Tests *IgG CSF Reaction Buffer SPAPLUS* (Buffer de reacción IgG en LCR humano para uso en SPAPLUS)

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Equipamiento de laboratorio para la recolección y preparación de muestras (probetas para las muestras, centrifuga, etc.).
- 8.2.2 Un analizador SPAPLUS completamente equipado.
- 8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual del usuario SPAPLUS, Código FIN012.
- 8.2.4 Dilución de muestra (99: Dil 1). Código de Producto: SN080.S.
- 8.2.5 Solución de lavado alcalina 2% (dilución de trabajo)

8.3 Preparación de los reactivos

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 equipo SPAPLUS antes de realizar la prueba. Preparar el equipo según el manual del fabricante y el protocolo de prueba introducido tal y como se describe a continuación.

Consulte información más detallada sobre el funcionamiento del analizador en el Manual del usuario SPAPLUS (FIN012) suministrado junto con el analizador.

8.4.1 Parámetros de la prueba

Los parámetros del ensayo están introducidos en el ítem No. 30.

Item Name 30 IgG C		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		Type Spline 1 ▼	
Units	mgL	Standard	
Decimals	2	1 #	4 #
ANALYSIS		2 #	5 #
Type	End ▼	3 #	6 #
Main W.Length 1	340 ▼	NORMAL RANGE	
Sub W.Length	▼		
Method		MALE	FEMALE
		LOW	HIGH
		LOW	HIGH
CORR.		Serum	[] [] [] [] [] []
		Urine	[] [] [] [] [] []
		Plasma	[] [] [] [] [] []
		CSF	[] [] [] [] [] []
		Dialysis	[] [] [] [] [] []
		Other	[] [] [] [] [] []
Y =	SLOPE INTER		
	1 X + 0		
Page : 1	Print	Hard Copy	Next Page Save Return

Item Name 30 IgG C		DATA PROCESS		ABSORBANCE LIMIT	
ASPIRATION		READ	START	END	LOW
KIND	Single Double	MAIN	53	54	3.0
		SUB	30	31	HIGH #
SAMPLE		VOLUME		FACTOR	
	30				Reaction Check
REAGENT1 VOL	170				Blank correction * ON OFF
REAGENT2 VOL	20				ENDPOINT LIMIT 2.0 CHECK POINT
					LINEAR CHECK (%) 0 LOW-3
					HIGH 3
Third mix	OFF ON	DILUTION			
R1 Blank	Water - Blank	Diluent		99: Dil 1	100: Dil 2
		Pre Dilution Rate			
		Auto Rerun Dilution Rate High	10		
		Auto Rerun Dilution Rate Low			
MONITOR		PROZONE CHECK			
0 LEVEL SPAN 1			START	END	LIMIT (%)
SPAN	3.0		FIRST		
			SECOND		
			THIRD		
Page : 2	Print	Hard Copy	Prev Page	Next Page	Save Return

Calculará automáticamente

Item Name 30 IgG C		Auto Rerun SW		Auto Rerun Condition (Absorbance)	
		On	Off	Absorbance Range	
Auto Rerun Range (Result)		Lower	Higher	Lower	On
		On	Off	Higher	On
Serum	Cal 1 #	Cal 6 #		Prozone Range	On
Urine					Off
Plasma					Off
CSF					Off
Dialysis					Off
Other					Off
Bottle Size (ml)					
24 Items		36 Items			
Reagent1	60	Reagent1	0		
Reagent2 R1	10.9	Reagent2 R1	0		
Reagent2 R2	1.9	Reagent2 R2	0		
Page : 3	Print		Prev Page	Save	Return

N.B. Los valores de comprobación del calibrador (Standard #) y del límite superior de absorbencia (High #) que hay que introducir en **Pages: 1 y 2** se encuentran en el certificado de control de calidad del producto (SIN213.QC). Los valores de comprobación del calibrador se deben introducir en orden ascendente, el valor más bajo en primer lugar.

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

Se llevó a cabo el estudio siguiendo la CLSI *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline* (CLSI Documento EP5-A2). El estudio se realizó durante 5 días laborales, con dos ensayos por día. Un usuario valoró tres muestras distintas utilizando un único lote de reactivo en un analizador.

Resumen de precisión IgG LCR									
	Media (mg/L)	Intra-ensayo		Inter-ensayo		Inter día		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Muestra 1	125,533	1,3	1,0	6,2	4,9	0,0	0,0	6,3	5,0
Muestra 2	31,707	0,3	0,9	1,6	5,0	2,0	6,4	2,6	8,2
Muestra 3	7,447	0,1	1,6	0,4	5,5	0,2	3,3	0,5	6,6

12.2 Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio de correlación analizando 96 muestras de LCR (35 muestras normales y 61 muestras clínicas) con este kit en un SPAPLUS y otro ensayo de IgG en LCR disponible en el mercado. El estudio dio el siguiente ajuste Passing Bablok:

$$y = 1,05x - 0,27 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{IgM en LCR para SPAPLUS}; x = \text{ensayo alternativo})$$

$$\text{Coeficiente de correlación } r = 0,983 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

12.3 Límite de detección y límite de cuantificación

Basado en el documento de la CLSI *EP17-A2 - Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline*. El límite de detección representa el nivel inferior medible de analito que puede ser diferenciado de cero. Se ha estimado en 0.69mg/L (n = 60). El límite de cuantificación se ha calculado como 4,46mg/L (n=60) en base a un lote a dilución de muestra 1/1.

12.4 Linealidad

Se llevó a cabo un estudio de linealidad siguiendo la CLSI (antes NCCLS) *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures* documento EP6-A. Un usuario analizó la linealidad de una serie de muestras diluidas a un nivel alto con un solo lote de reactivo en un único analizador. Se obtuvo una curva de regresión: $y = 0,9996x - 0,4893 \text{ mg/L}$ (y = concentración de IgG medida en LCR, x = concentración teórica) sobre el rango de 6,88-135,65mg/L.

12.5 Sustancias interferentes

No se observó una interferencia significativa por 100mg/L de bilirrubina, 2,5g/L de hemoglobina, 200mg/L de acetaminofeno y 600mg/L de aspirina a la dilución de muestra mínima (1/1).

	Bilirrubina	Hb	Acetaminofeno	Aspirina
Media IgG (mg/L)	32,1	30,1	32,1	31,8
% interferencia	-2,59	-3,12	0,17	1,95

No se ha evaluado la interferencia bacteriana (ver sección 10.7).

12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno al nivel de cinco veces el punto más alto del ensayo; aproximadamente 700mg/L.

13 BIBLIOGRAFIA

- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2001;184:101-22.
- Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, Siede WH. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 May;111(4):313-8.
- Wu AHB, ed. Tietz Clinical guide to laboratory tests, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2006: 606.
- Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In Thomas L (Ed.) *Clinical laboratory diagnosis*, TH-books, Frankfurt/Main 1998; 1308-26.

IMPORTANTE: el analizador calculará e introducirá automáticamente los rangos de medición correctos en el ítem de las páginas 3 y 4 siempre y cuando se pulse el botón ENTER tras introducir el valor para el calibrador 6 en Page: 1. Se puede visualizar el parámetro del ítem de la página 4 para asegurar la introducción del valor correcto.

8.4.2 Lavado de agujas de muestra

Para prevenir la aparición de valores de arrastre en la muestra, se debe programar un lavado de aguja de muestra.

- 8.4.2.1 Haga click en **System** desde la pantalla principal del software de SPAPLUS.
- 8.4.2.2 Seleccione **Sys Para** desde el menú desplegable.
- 8.4.2.3 Seleccione **Item** para el tipo de lavado de aguja de muestra y haga click en **Save**. Haga click **OK** para guardar y **Exit** para volver a la pantalla principal.
- 8.4.2.4 Haga click en **System** desde la pantalla principal del software de SPAPLUS.
- 8.4.2.5 Seleccione **Sample Probe Wash** desde el menú desplegable.
- 8.4.2.6 Seleccione **Item by item setting** e introduzca los parámetros como se describe a continuación:

Sample Probe Wash (Item)			
Item 1	Item 2	Wash	
▼	030:IgG C	▼	W2
All clear	Line clear	Update	Exit

- 8.4.2.7 Haga click en **Update** y **OK** para guardar la información y **Exit** para volver a la pantalla principal.

8.4.3 Parámetros de calibración

Para proteger la aguja de muestra contra posibles valores de arrastre de ensayos anteriores, se deben programar seis réplicas de blanco para la curva de calibración.

Calibration Parameter							
CH ODR	ITEM#	Name	BLK ODR	Re CAL	BLK	STD-1	STD-2
1	30	IgG C	□	□	B1-6	S1-1	S2-1
□	Graph	030					
Order All		Update		Exit			

8.4.4 Volúmenes de control

Para cada control transfiera 120µL de fluido a un tubo de muestras y colóquelo en el rack.

8.4.5 Análisis de muestras y controles de pacientes

Aviso importante: Los controles se deben colocar en el rack de muestras, no en el de calibradores. Si no, no se activará el lavado de aguja de muestras.

- 8.4.5.1 Antes de colocar el rack de muestras cargado en el analizador, llene una cubeta de muestras con 1,5mL de solución de lavado alcalina 2% (dilución de trabajo) y póngalo en la posición W2 del rack de muestras (posición W1 para albúmina LCR). Una vez completado el análisis de muestras, retire el tubo de la posición W2.
- 8.4.5.2 Al pedir las muestras, seleccione el tipo de espécimen adecuado para cada muestra.

Nota: Tras analizar muestras de LCR el 'sample type' de la pantalla **Order** quedará en LCR por defecto. Asegúrese de cambiar el 'specimen type' según convenga al pedir manualmente la siguiente muestra de suero u orina.

8.5 Rango de medida

El rango de medida aproximado del ensayo IgG se muestra en la siguiente tabla.

Tipo de espécimen	Dilución del analizador	Rango aproximado (mg/L)
LCR	1/1	4,2 – 135
	1/10	42 – 1350

9 CONTROL DE CALIDAD

Los controles suministrados se deben incluir en todas las ejecuciones del ensayo. La concentración de IgG está indicada en la Hoja de Datos de Producto adjunta (SIN213.QC). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del ±15% de las concentraciones indicadas.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 Los ensayos turbidimétricos no son adecuados para la medida de muestras con niveles elevados de complejos inmuno circulantes (CIC's), o para muestras hemolizadas o altamente lipémicas, debido al impredecible grado de dispersión inespecífica que pueden generar estas muestras. Resultados inesperados deben confirmarse mediante un método alternativo, por ejemplo inmunodifusión radial.
- 10.2 No se ha validado el uso de muestras pediátricas en este ensayo.
- 10.3 Si una medida de control queda fuera de rango cuando se ensaya con una curva de calibración guardada se debe recalibrar el ensayo. Si tras la recalibración los valores de control medidos con la nueva curva quedan todavía fuera de rango, se debe revisar el instrumento y los parámetros de ensayo antes de repetir el ensayo. Si los problemas continúan, contacte con su proveedor.
- 10.4 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.
- 10.5 Las variaciones en la temperatura del reactivo puede afectar a los resultados. Asegúrese de que los reactivos se transfieran directamente desde el refrigerador al compartimento refrigerado para reactivos del analizador: no deje que pasen a temperatura ambiente.
- 10.6 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.
- 10.7 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).

11 VALORES ESPERADOS

Los rangos indicados se han obtenido a partir de un número limitado de muestras procedentes de adultos y son únicamente una guía. Siempre que sea posible es muy recomendable que se establezcan rangos de normalidad en cada laboratorio.

El intervalo de referencia para IgG en LCR es <34mg/L (tras la conversión a DA470k)⁴

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