



Kit C1 Inactivador Optilite®

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

Código de Producto: NK019.OPT

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

Optilite® es una marca registrada de The Binding Site Group Limited (Birmingham, Reino Unido) en ciertos países. El resto de marcas y nombres de productos pueden ser marcas comerciales de sus respectivos propietarios



1 APLICACIÓN

El kit C1 inactivador Optilite tiene como objetivo la cuantificación *in vitro* de C1 inactivador en suero, en plasma obtenido con heparina lítica y EDTA en el analizador Optilite de Binding Site, como ayuda al diagnóstico del angioedema hereditario (HAE). Se debe usar junto con otras determinaciones clínicas y de laboratorio.

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El C1 inactivador (también conocido como C1 inhibidor) es una glicoproteína sérica ácida de 105 kDa miembro de la familia de las serpinas. El C1 inactivador es un regulador importante de la vía clásica del complemento. Inhibe la activación del primer componente de la cascada del complemento, limitando así cualquier efecto potencialmente dañino o la sobre-activación. Actúa inhibiendo la actividad de las serin-proteasas C1s y C1r. El C1 inactivador es un principal regulador de la respuesta inflamatoria. La determinación del C1 inactivador es útil para el diagnóstico del angioedema hereditario y angioedema adquirido, que son las deficiencias del complemento más comunes (refs 1-3).

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:** Se suministra en forma líquida estabilizada. Conservantes: 0,099% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA), 0,1% de EDTA y 0,01% de benzamidina.
- 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 ácido E-amino-n-caproico (EACA) y 0,01% de benzamidina. La concentración indicada en el certificado de control de calidad se ha obtenido por comparación con un calibrador interno de referencia.
- 4.3 **Buffer de reacción:** Contiene 0,099% de azida sódica como conservante.

5 PRECAUCIONES

Los sueros humanos suministrados en el kit han sido sometidos a screening para donantes, resultando negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), de los anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH1 y VIH2) y del virus de la hepatitis C. Las técnicas usadas están aprobadas por la FDA (USA) o aprobadas para el diagnóstico *in vitro* en la UE (Directiva 98/79/EC, Anexo II); sin embargo dichos ensayos no garantizan la ausencia de agentes infecciosos. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados para todos los materiales potencialmente infecciosos, incluyendo el uso de guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. Los procedimientos deben ser accesibles sólo a personal con formación específica.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica y debe ser manipulado con precaución; se deben usar guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. No trague ni permita el contacto con la piel o las mucosas (especialmente si hay heridas). En caso de contacto, lave con abundante agua y consulte a un médico. Con el

plomo y el cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, lave con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida.

Este producto debe ser utilizado por personal especializado para los fines indicados en el apartado Aplicación. Se recomienda observar estrictamente el procedimiento indicado. No se garantizan resultados válidos obtenidos utilizando parámetros diferentes que los indicados.

Los reactivos de diferentes lotes **NO** son intercambiables.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los kits no abiertos deben conservarse a 2-8°C y se pueden usar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del kit. **NO CONGELAR.** El reactivo, el calibrador y los controles pueden conservarse refrigerados a 2-8°C durante tres meses como máximo tras la apertura, tomando precauciones para evitar la evaporación. El reactivo se puede conservar, sin proteger, hasta 30 días en el analizador Optilite, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación.

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de sangre deben proceder de extracciones venosas, y en el caso del plasma separarlo lo antes posible. La sangre se ha de dejar que coagule de modo natural y separar el suero lo antes posible para prevenir la hemólisis. Las muestras deben conservarse a 2-8°C si el ensayo se ejecuta dentro de ocho días. Para periodos más largos, se recomienda alícuotar y conservar a -20°C o temperatura inferior durante 1 año como máximo (Ref 4). No congelar y descongelar más de una vez. Evitar el uso de muestras lipémicas, hemolizadas o contaminadas por microbios, o de muestras que contengan partículas. Es responsabilidad de cada laboratorio el uso de todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad específicos para su laboratorio (Ref 9).

8 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 50 Tests Optilite C1 I Reagent (reactivo C1 inactivador Optilite)
- 8.1.2 1 x 2.2mL Optilite C1 I Calibrator (calibrador C1 inactivador Optilite)
- 8.1.3 1 x 1.5mL Optilite C1 I High Control (control elevado C1 inactivador Optilite)
- 8.1.4 1 x 1.5mL Optilite C1 I Low Control (control bajo C1 inactivador Optilite)

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Materiales necesarios para la preparación de las muestras, como tubos para la recolección de la sangre, centrifuga, etc.
- 8.2.2 Analizador Optilite completamente equipado.
- 8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual de funcionamiento Optilite, código INS700.OPT
- 8.2.4 Diluyente 2 Optilite, código de producto IK710

8.3 Preparación de los reactivos

Antes de cargar, mezclar por inversión evitando la formación de espuma o burbujas que podrían interferir en el momento de la aspiración del reactivo.

8.4 Procedimiento de la prueba

El usuario deberá estar familiarizado con el funcionamiento del analizador Optilite antes de realizar la prueba. Preparar el equipo para su uso según las instrucciones del manual de funcionamiento Optilite.

- 8.4.1 Los parámetros de la prueba para este ensayo se indican en el de código de barras del certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert019.OPT). Escanee los códigos Barcode 1 y Barcode 2 para cargar los parámetros.

8.5 Rango de medición

El rango de medición aproximado del ensayo se indica en la siguiente tabla:

Dilución del analizador Optilite	Rango aproximado (g/L)
1+4	0.08 – 0.44
1+9	0.16 – 0.88

9 CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar al menos dos niveles de material de control adecuado una vez al día como mínimo. Además, se deben analizar controles tras la calibración, con cada nuevo lote de reactivo y tras el mantenimiento específico o los pasos de resolución de problemas descritos en el manual de funcionamiento Optilite.

El análisis de control se debe realizar de acuerdo a los requerimientos reglamentarios y el procedimiento estándar de cada laboratorio.

Las concentraciones de los controles suministrados están indicadas en el certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert019.OPT). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del $\pm 15\%$ de las concentraciones indicadas.

En caso de que un control dé un resultado fuera del rango y se haya empleado una curva de calibración almacenada, se recomienda calibrar de nuevo el test. Si aún después de la nueva calibración estuviera fuera de rango, deberá verificarse el instrumento y los parámetros programados. Si no se solucionara el problema, rogamos se dirijan al soporte técnico de su proveedor.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 Los tests turbidimétricos no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CICs) dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- 10.2 No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de C1 inactivador. Deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio
- 10.3 La marca "Blank Resp high" (respuesta elevada del blanco) indica que la muestra presenta turbidez. Todas las muestras que produzcan esta marca se deben examinar visualmente, y, si es necesario, centrifugar y volver a analizar. Se sabe

que las muestras lipémicas interfieren con este ensayo, por lo tanto no se deben analizar.

- 10.4 No se ha validado el uso de muestras pediátricas en este ensayo.
 10.5 En pacientes con angioedema hereditario (HAE), se ha reportado que C1 inactivador puede formar complejos covalentes con sus proteasas diana (ref 5). No se ha evaluado el posible efecto que puede tener esto en los resultados de pacientes obtenidos con este ensayo.
 10.6 En pacientes con angioedema adquirido (AAE), se ha reportado que se producen anticuerpos contra C1 inactivador (refs 6-8). No se ha evaluado la posibilidad de interferencias entre estos anticuerpos y los resultados de pacientes obtenidos con este ensayo.

11 VALORES ESPERADOS

Los rangos indicados se han obtenido a partir de un número limitado de muestras y son únicamente orientativos. Los valores esperados pueden variar en función de la edad, sexo, tipo de muestra, dieta y localización geográfica. Cada laboratorio debe verificar la transmisibilidad de los valores esperados a la población a analizar y, si es necesario, establecer su propio rango de referencia.

Rango en suero de adultos

Este rango de referencia se obtuvo mediante la medición de la concentración de C1 inactivador de sueros procedentes de donantes adultos sanos de Estados Unidos en el analizador Optilite. El intervalo de referencia se calculó mediante datos estadísticos no paramétricos y representa el 95% central de la población.

	Número (n)	Valor medio (g/L)	Conc. mediana (g/L)	Rango percentil 95 (g/L)
C1 inactivador	120	0.29	0.29	0.21 – 0.38

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

El estudio de precisión se realizó siguiendo las pautas CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. El estudio se llevó a cabo durante 21 días laborables, con 2 series al día. Un usuario midió los resultados de 5 muestras diferentes usando 3 lotes de reactivos diferentes en 5 analizadores.

	Resumen de Precisión								
	Media (g/L)	Intra-ensayo		Inter-ensayo		Inter día		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Nivel 1	0.127	0.0024	1.9	0.0072	5.7	0.0059	4.7	0.0096	7.6
Nivel 2	0.165	0.0053	3.2	0.0068	4.1	0.0080	4.9	0.0118	7.1
Nivel 3	0.289	0.0048	1.7	0.0066	2.3	0.0124	4.3	0.0149	5.1
Nivel 4	0.393	0.0065	1.6	0.0074	1.9	0.0174	4.4	0.0200	5.1
Nivel 5*	0.418	0.0083	2.0	0.0075	1.8	0.0160	3.8	0.0195	4.7

* a la dilución de muestra 1+9

12.2 Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 223 muestras (incluyendo 144 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con el kit C1 inactivador Optilite y un kit alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0.92x + 0.01 \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{analizador prediado})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0.961 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 55 pares de muestras de suero y EDTA en plasma con el kit C1 Inactivador Optilite. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1.01x - 0.01 \quad (y = \text{EDTA en plasma}; x = \text{suero})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0.989 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 55 pares de muestras de suero y heparina lio en plasma con el kit C1 Inactivador Optilite. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0.99x + 0.00 \quad (y = \text{heparina lio en plasma}; x = \text{suero})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0.990 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

12.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LoQ) de este ensayo se define como el punto inferior del rango de medición, 0.08g/L. El estudio de validación del LoQ se basó en el documento CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.4 Linealidad

El estudio de linealidad se basó en el documento CLSI EP6-A *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures*. Se ha demostrado linealidad en el rango de analito 0.070 a 0.472 g/L con la dilución de muestra 1+4.

Ecuación de regresión: $y = 0.98x + 0.01$ ($y =$ concentración medida, $x =$ concentración teórica); $r = 0.999$

12.5 Sustancias interferentes

Se llevó a cabo un estudio siguiendo las pautas de la CLSI EP7-A2: *Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline* (documento CLSI EP7-A2). Se analizaron una muestra de suero normal, una muestra de suero con valor cercano al punto de decisión médica y una muestra de suero clínico. No se observaron interferencias significativas en los ensayos con triglicéridos (10g/L), bilirrubina (200mg/L) o hemoglobina (5g/L). Se observaron señales de interferencia con 2,5g/L de intralípidos y se sabe que las muestras lipémicas interfieren con este ensayo. Por lo tanto las muestras lipémicas no deben de ser analizadas utilizando este ensayo (vea la sección 10.3).

No hay constancia de interferencia significativa con fármacos de uso habitual. Varias publicaciones ofrecen más información al respecto⁹.

12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 4 veces el punto más alto de la curva de calibración. Esto equivale a 1.8g/L.

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Zuraw B.L. (2003). Diagnosis and management of hereditary angioedema: an American approach *Transfusion and Apheresis Science*, 29. pp 239–245
- Rosen F.S. and Davis A.E. (2005) Deficiencies of C1 inhibitor. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* Vol. 19, No. 2, pp. 251–261
- Gompels M. M., et al (2005) C1inhibitor deficiency: consensus document British Society for Immunology, *Clinical and Experimental Immunology*139:pp379–394
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002
- Cugno M. et al (1990), Plasma levels of C1 inhibitor complexes and cleaved C1 inhibitor in patients with hereditary angioneurotic edema. *J Clin Invest* 85: 1215-1220.
- Alsens J, Bork K, Loos M, (1987), Autoantibody-mediated acquired deficiency of C1 inhibitor. *N Engl J Med* 316: 1360-1366.
- Chevailler A. et al (1996). C1-inhibitor binding monoclonal immunoglobulins in three patients with acquired angioneurotic edema. *J Clin Immunol* 97 (4): 998-1008.
- Fremau-Bacchi V. et al (2002). Prevalence of monoclonal gammopathy in patients presenting with acquired angioedema type 2. *Am J Med* 113 (3) 194-199.
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. AACCC Press, 2000