

### DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE INMUNOGLOBULINA A (IgA)

#### IVD

Conservar a 2 - 8°C.

#### USO RECOMENDADO

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

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

#### SIGNIFICADO CLÍNICO

La IgA representa aproximadamente entre un 10 y 15% del total de inmunoglobulinas séricas. Su estructura es monomérica, similar a la IgG, pero su forma dimérica representa un total de 10-15% de la IgA, especialmente la IgA2, la cual es mucho más resistente a la destrucción de algunas bacterias patógenas. Una forma especial de IgA se denomina IgA secretora, que se halla en saliva, lágrimas, sudor, leche y secreciones gástricas y bronquiales.

La IgA se encuentra generalmente elevada en infecciones de la piel, pulmones, riñón y cirrosis hepática. Pueden encontrarse elevaciones de concentración de IgA monoclonal en mielomas múltiples y otras alteraciones de las células plasmáticas.

#### REACTIVOS

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

#### CALIBRACIÓN

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el **PROT CAL REACTIVA SEARCH** 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.

#### PREPARACIÓN

**Reactivos:** Listos Para el uso.

**Curva de Calibración:** Preparar las siguientes diluciones del **PROT CAL REACTIVA SEARCH** en NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de IgA, multiplicar la concentración de IgA 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

#### CONSERVACIÓN 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 termostatzable 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 ( $A_1$ ) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

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

7. Mezclar y leer la absorbancia ( $A_2$ ) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

#### CÁLCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias ( $A_2 - A_1$ ) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de IgA de cada dilución del Calibrador.

La concentración de IgA en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia ( $A_2 - A_1$ ) en la curva de calibración.

#### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. **REACTIVA SEARCH** dispone del Multi RS Control.

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 REFERENCIA.

Entre 70 - 400 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Rango de medida:** hasta 600 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.

**Límite de detección:** valores por debajo de 0.0006 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

**Sensibilidad:**  $\Delta$  2.1 mA/mg/dL (71 mg/dL).

**Efecto prozona:** No se observa hasta valores de 2000 mg/dL.

**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 (%)		
	127.7 mg/dl	196.9 mg/dl	416.3 mg/dl
Total	8.2%	5.2%	3.5%
Within Run	1.7%	1.5%	1%
Between Run	2.2%	1.9%	2.4%
Between Day	7.7%	4.6%	2.3%

**Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con un Método inmunoturbidimétrico de Bayer. 46 muestras de concentraciones de IgA entre 20 y 400 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,97 y la ecuación de la recta de regresión  $y = 1.16x - 12.2$ . Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

#### INTERFERENCIAS

Bilirrubina (50 mg/dL), hemoglobina (50 g/L) y los lípidos (12.5 g/L), no interfieren. Los factores reumatoides pueden interferir a concentraciones superiores a 900 UI/mL. Otras sustancias pueden interferir.

#### 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.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.

#### PRESENTACIÓN

**CON**

R1. Diluyente: 1 x 40 mL

R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL