

Ensayo inmunoenzimático por quimioluminiscencia para la cuantificación de Ferritina en suero.

INTENCIÓN DE USO

Ferritina en Quimioluminiscencia (CLIA) es un ensayo inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de Ferritina en suero humano.

RESUMEN Y APLICACIÓN

Uno de los trastornos más comunes del hombre es la deficiencia dietética de hierro y la anemia resultante. Por lo tanto, los ensayos de hierro, la capacidad total de unión del hierro y otras evaluaciones de compuestos de hierro en el cuerpo son clínicamente significativas.

Los compuestos de almacenamiento de hierro en el cuerpo incluyen la hemoglobina, hemosiderina, mioglobulina y los citocromos. En la mayoría de los tejidos, la Ferritina es una proteína principal de almacenamiento de hierro. La Ferritina humana tiene un peso molecular de aproximadamente 450.000 Daltons, y consta de una cubierta de proteína alrededor de un núcleo de hierro; cada molécula de Ferritina puede contener hasta 4.000 átomos de hierro. En condiciones normales, esto puede representar 25% del hierro total que se encuentra en el cuerpo. Además, la Ferritina se puede encontrar en varios isómeros.

Las altas concentraciones de Ferritina se encuentran en el citoplasma del sistema reticuloendotelial, el hígado, el bazo y la médula ósea. Los métodos utilizados previamente para medir el hierro en tales tejidos son invasivos, pueden causar trauma al paciente y la falta de sensibilidad adecuada.

La medición de la Ferritina en suero es útil para determinar cambios en el almacenamiento de hierro del cuerpo, y no es invasivo con relativamente poca incomodidad del paciente. Los niveles de Ferritina sérica se pueden medir de manera rutinaria y son particularmente útiles en la detección precoz de la anemia por deficiencia de hierro en personas aparentemente sanas.

Las mediciones de Ferritina sérica son también clínicamente significativa en el seguimiento del estado del hierro de las mujeres embarazadas, los donantes de sangre y pacientes sometidos a diálisis renal. Los niveles de Ferritina altos pueden indicar la sobrecarga de hierro sin daño hepático aparente, como puede observarse en las primeras etapas de la hemocromatosis idiopática. Los niveles de Ferritina en suero también se han utilizado para evaluar las condiciones clínicas no relacionadas con el almacenamiento de hierro, incluyendo la inflamación, enfermedad hepática crónica, y malignidad.

El equipo de pruebas de la Ferritina proporciona un ensayo rápido, sensible y fiable. Los anticuerpos desarrollados para la prueba determinarán una concentración mínima de Ferritina humana de 5 ng/ml. Hay una mínima reactividad cruzada con la albúmina sérica humana, la alfa-Fetoproteína, la hemoglobina humana, la transferrina humana, y cloruro férrico.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El antígeno purificado H. Pylori está revestido en la superficie de los micropocillos. El suero diluido del paciente es agregado a los pozos, y el anticuerpo específico de H. Pylori IgG, si está presente, se une al antígeno. Todos los materiales que no son unidos deben de ser lavados. Después de la adición de la enzima conjugada, se une al complejo antígeno-anticuerpo. El exceso de conjugado enzimático se lava y se añade la mezcla del sustrato A & B. La luz generada (RLU) es proporcional a la cantidad de anticuerpo específico de IgG en la muestra. Los resultados se leen por medio de un Luminómetro de micropocillos, que son a su vez comparados de una manera paralela con un calibrador y controles.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. Tiras de micropocillos: Pocillos recubiertos de antígeno purificado de H. Pylori (12 x 8 pocillos)
2. Diluyente de la muestra: Solución de color azul. 1 vial (22 ml)
3. Calibrador: Valor del factor (f) indicado en la etiqueta. (Tapón rojo) 1 vial (150 µl)
4. Control Negativo: Rango indicado en la etiqueta. (Tapón natural) 1 vial (150 µl)
5. Control Positivo: Rango indicado en la etiqueta. (Tapón verde) 1 vial (150 µl)
6. Concentrado de lavado 10x. 1 botella (100 ml)
7. Conjugado enzimático: Solución de color rojo. 1 vial (12 ml)
8. Sustrato A: H₂O₂ en tampón. Botella color natural 1 vial (6 ml)
9. Sustrato B: Luminol en tampón. Botella color ámbar. 1 vial (6 ml)

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2°-8°C.
2. Siempre mantener los micropocillos herméticamente sellados en la bolsa con desecantes. Se recomienda que se utilicen los pocillos 4 semanas después de la apertura inicial de la bolsa.
3. Los reactivos son estables hasta la caducidad del kit.
4. No exponga los reactivos al calor, sol o luz fuerte durante el almacenamiento o uso.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Materiales con potencial riesgo biológico:

1. Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984:
2. No pipetee con la boca. No fume, coma, o beba en el área donde maneje este equipo.
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
4. Este producto contiene componentes preservados con azida de sodio. La azida sódica puede reaccionar con plomo y cobre y formar azidas metálicas explosivas. Para su eliminación, lavar con un gran volumen de agua.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8° C) por siete días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20° C hasta seis meses. Evite múltiples ciclos de congelación - descongelación.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Prepare 1x de solución de lavado. Prepare la solución de lavado añadiendo agua destilada o desionizada al concentrado de lavado 10x hasta un volumen final de 1 litro.
2. Conserve todos los especímenes y los reactivos a temperatura ambiente (20-25° C).

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Prepare la dilución 1:40 añadiendo 5 µl de las muestras, control negativo, control positivo y calibradores, a 200 µl del diluyente de la muestra. Mezclar bien.
2. Coloque el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
3. Prescindir de 100 µl de suero diluido, calibradores y controles en los pocillos apropiados. Posteriormente, golpear ligeramente el soporte para eliminar las burbujas de aire del líquido y mezclar bien. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
4. Retire el líquido de todos los pocillos y repita el lavado tres veces con la solución de lavado.
5. Dispense 100 µl de conjugado enzimático a cada pocillo e incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire la enzima conjugada de todos los pocillos. Repetir el lavado tres veces con la solución de lavado.
7. Mezclar un volumen igual de sustrato A y de sustrato B, y a continuación, se vierten 100 µl de esta mezcla a cada pocillo.
8. Leer el RLU con un Luminómetro a todos los micropocillos que estén dentro de los 5 - 30 minutos.

CÁLCULOS

Determinación de los índices de los valores:

1. Para obtener el valor de corte: Se debe multiplicar el RLU del calibrador por el factor (f) que viene impresa en la etiqueta del calibrador.
2. Calcular el índice de IgG de cada determinación, dividiendo el RLU de los valores de cada muestra entre el valor de RLU obtenido del cortado.

NOTA: Este factor (f) es una variable. Es específico para aquellos que son fabricados e impresos en la etiqueta del calibrador.

CONTROL DE CALIDAD

1. Para que los resultados del ensayo se consideren válidos, los controles deben estar dentro de los rangos indicados en las etiquetas.
2. Los valores de RLU varían con los diferentes Luminómetros que se emplee o sean utilizados.
3. Cada laboratorio debe establecer sus controles a niveles, en rangos bajos, normales y elevados, para poder así monitorear el ensayo. Las tendencias de control de calidad deben mantenerse para supervisar la constancia de los lotes.

Índices de H. Pylori	Interpretación
< 0.90	Negativo para H. Pylori IgG
0.91 – 0.99	Equivocación, la muestra debe ser probada de nuevo
1 - 2	Positivo bajo
2 – 2.5	Positivo moderado
> 2.5	Positivo bajo

PERFORMANCE

1. Sensibilidad:

Un total de 347 muestras de pacientes se utilizaron para evaluar la especificidad y la sensibilidad de la prueba. H. Pylori IgG. Los resultados de la prueba se compararon con los resultados de las biopsias endoscópicas.

2. Valores esperados:

48 muestras al azar se determinaron con H. Pylori IgG y los resultados de la prueba se calculan utilizando un índice de IgG de referencia el cual sea elegido. Con el índice de IgG de 1, resultaron 19 ser positivos (39.5%) y 29 resultaron ser negativos (60.35%).

3. Precisión:

La precisión del ensayo se evaluó mediante la prueba de tres sueros diferentes de ocho réplicas de más de 3 días. El Intra-ensayo e Inter-ensayo se resumen a continuación:

	Negativo	Positivo Bajo	Positivo
Intra-ensayo	9.1%	8.5%	6.4%
Inter-ensayo	10.5%	8.9%	7.5%

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El ensayo debe ser utilizado sólo para evaluar pacientes con signos y síntomas sugestivos de enfermedades gastrointestinales.
2. Un resultado positivo de la prueba no permite distinguir entre infección activa y la colonización por H. Pylori. No necesariamente indican que la enfermedad gastrointestinal está presente.

REFERENCIAS

1. Marshall, B. J. y J. R. Warren. bacilos curvados no identificado en el estómago de pacientes con gastritis y úlcera péptica, Lancet 1: 1311-1314, 1984.
2. Ruaws, E.A.J. y G.N.J. Tytgat. Cura de la úlcera duodenal asociada a la erradicación de Helicobacter pylori, Lancet 335: 1233-1235, 1990.
3. Perez-Perez, G.I, S.S. Wilkin, M.D. Decker y M.J Blawser. La seroprevalencia de la infección por Helicobacter Pylori en las parejas. J. Clin. Microbio 29: 642-644, 1991.