

## USO PREVISTO

El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte®** Rheumatoid Factor (RF) IgM Plus de ZEUS está diseñado para la detección cualitativa o cuantitativa de anticuerpos de tipo IgM contra el factor reumatoide (FR) en suero humano. El sistema de pruebas está diseñado para ser utilizado como ayuda en el diagnóstico de artritis reumatoide. Esta prueba está concebida exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.

## IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

La artritis reumatoide (AR) es un trastorno inflamatorio crónico, y generalmente progresivo, de las articulaciones. La AR es una enfermedad muy variable que se manifiesta desde un cuadro leve de breve duración a una poliartritis destructiva progresiva asociada con una vasculitis sistémica (1). Se ha estimado recientemente que aparece en un 1-2% de la población general (2) y es dos veces más probable que se produzca en hombres que en mujeres (1).

Las características clínicas de la enfermedad precoz consisten en linfadenopatía, anorexia, debilidad, cansancio y rigidez matutina o dolor generalizado (1,3). La AR se asocia con varios atributos que se pueden medir en el laboratorio (4). Los hallazgos analíticos más frecuentes que se asocian con la AR son el factor reumatoide (FR), los anticuerpos antinucleares (ANA), los complejos inmunes y los niveles de complemento característicos (3). La medición de la IgM FR en suero tiene un papel diagnóstico importante en la AR y más recientemente se ha visto implicado con el pronóstico de la enfermedad (6).

El FR pertenece a un grupo de inmunoglobulinas definido típicamente como anticuerpos que reaccionan con la porción Fc de las moléculas de IgG humana (y de algunas otras especies) (1, 4). El FR es un anticuerpo policlonal que reacciona con una gran cantidad de determinantes de la molécula IgG (4). Los anticuerpos contra el FR pertenecen a las tres clases principales de inmunoglobulinas: IgM, IgG e IgA, aunque también se ha descrito FR IgE (5). Los FR IgM e IgG son los más frecuentes (1), estando presente el FR IgM en el 75% de los pacientes diagnosticados de AR (4). El FR también se ha asociado con algunas infecciones bacterianas y víricas como hepatitis y mononucleosis infecciosa, y con algunas infecciones crónicas como tuberculosis, enfermedades parasitarias, endocarditis bacteriana subaguda y cáncer (1). Además, se pueden ver niveles elevados de FR en el 15% de la población mayor de 65 años de edad (4).

## FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS está diseñado para detectar anticuerpos de tipo IgM contra FR en suero humano. El procedimiento de la prueba comprende dos pasos de incubación:

- Los sueros de prueba (diluidos correctamente) se incuban en una mezcla multiplexada de la suspensión de microesferas. La suspensión de microesferas contiene una mezcla de conjuntos distinguibles de microesferas de poliestireno; cada uno conjugado con un antígeno diferente. Si está presente en los sueros del paciente, FR IgM se unirá con el antígeno inmovilizado en uno o más conjuntos de microesferas. Las microesferas se enjuagan para extraer las proteínas séricas no reactivas.
- El IgM antihumano de cabra conjugado con ficoeritrina se añade al recipiente y la platina se incuba. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de tipo IgM inmovilizado en la fase sólida del paso 1. A continuación, la suspensión de microesferas se analiza utilizando el instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. El conjunto o conjunto de microesferas se clasifican (identifican) y la cantidad de molécula informante (conjugado PE) se determina para cada conjunto de microesferas. Mediante el empleo de *Intra-Well Calibration Technology®* (tecnología de calibración intrapocillo), se utilizan conjuntos de micropartículas de calibración interna para convertir fluorescencia sin procesar en resultado (unidades).

## COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBA

### Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): Suspensión de microesferas, controles, conjugado y SAVE Diluent®.**

SOLN	BEAD	1. Suspensión de microesferas: contiene microesferas de poliestireno de 5,6 micras que se conjugan con IgG humano purificado por afinidad. La suspensión de microesferas también contiene un conjunto de microesferas diseñadas para detectar anticuerpos no específicos en la muestra del paciente (si está presente) y cuatro conjuntos de microesferas separadas que se utilizan para la calibración del ensayo. Un frasco de color ámbar que contiene 5,5 ml. Listo para usar.
CONJ		2. Conjugado: IgM antihumana (específica de la cadena $\mu$ ) de cabra conjugado con ficoeritrina. Una botella de color ámbar que contiene 15 ml. Listo para usar.
CONTROL	+	3. Control positivo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón rojo.
CONTROL	-	4. Control negativo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón verde.
DIL	SPE	5. Diluyente SAVE Diluent®: Una botella de 50 ml con tapón verde solución salina tamponada con fosfato. Listo para usar. <b>NOTA: El diluyente SAVE Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.</b>
WASHBUF	10X	6. Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Una botella de 50 ml con tapón transparente que contiene solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X.

### NOTAS:

- Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** de ZEUS: Tampón de lavado y **SAVE Diluent®**
- El sistema de pruebas también contiene:
  - Una etiqueta de componentes que contiene información específica de lote dentro de la caja del sistema de pruebas.
  - CD de calibración que incluye los valores de calibración del kit específicos de los lotes y necesarios para el análisis de la muestra y el control de calidad del ensayo, y prospectos del paquete.
  - Una placa de disolución de 96 pocillos.
  - Una placa del filtro de disolución de 96 pocillos.

## PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No respire los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
- La suspensión de microesferas **AtheNA Multi-Lyte** no contiene organismos viables. No obstante, el reactivo se debe considerar como un **peligro biológico potencial** y se debe manipular consecuentemente.
- Los controles son **materias con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se

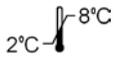
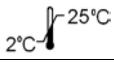
recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (9).

- Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de empezar el ensayo.** Devuelva los reactivos no utilizados a una temperatura refrigerada inmediatamente después de su uso.
- Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
- El diluyente SAVe®, la suspensión de microesferas, los controles y el conjugado contienen azida sódica en una concentración de 0,1% (w/v). Se ha informado que la azida sódica forma azidas de plomo o cobre en las cañerías del laboratorio, lo que puede ocasionar explosiones al golpear con un martillo. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
- La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
- La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
- No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
- Nunca pipeteo con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
- La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
- Evite salpicar o generar aerosoles.
- No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación. La suspensión de microesferas y el conjugado son reactivos sensibles a la luz. Ambos se han embalado en envases que protegen de la luz. Las exposiciones normales que se experimentan durante el curso de la ejecución del ensayo no afectarán al rendimiento del ensayo. No exponga estos reactivos a fuentes potentes de luz visible de manera innecesaria.
- Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio) Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
- Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
- No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
- No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
- Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud 10 - 200 µl.
- Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
- Pipetas serológicas.
- Puntas de pipetas descartables.
- Toallas de papel.
- Cronómetro de laboratorio para controlar los pasos de incubación.
- Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio)
- Sistema **AtheNA Multi-Lyte** (Luminex® Instrument) con fluido envolvente (número de producto 40-50000).
- Agua destilada o desionizada.
- Vórtex.
- Sonicador de baño pequeño.
- Agitador de placas capaz de agitar a una velocidad de 800 RPM (opcional para el mezclador)
- Aspirador de vacío y colector de vacío para lavar las microesferas.

### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Suspensión de microesferas: Extraiga solo la cantidad necesaria para analizar las muestras a los que se les va a realizar la prueba y devuelva la porción no utilizada a su almacenamiento.
	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de pruebas, control positivo, control negativo y diluyente SAVe Diluent®
	Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25 °C o durante 30 días entre 2 y 8 °C. Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C

### RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

- ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recolección de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
- Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
- Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica. No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
- Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8 °C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a -20 °C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad de cada laboratorio utilizar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (10).

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Retire los componentes individuales del kit del lugar de almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25°C).
- Determine el número total de Controles y muestras que se desean probar. Es necesario incluir el Control Negativo y el Control Positivo con cada tanda de pruebas. El Control Negativo se debe probar en el pocillo A1, y el Control Positivo en el pocillo B1. Cada Control y muestra necesita un micropocillo para su procesamiento.
  - Para optimizar los tiempos de lectura, la suspensión de microesferas debe estar bien mezclada antes de su empleo. El medio más efectivo de volver a suspender las microesferas es primero utilizar el vórtex con la suspensión de microesferas durante aproximadamente 30 segundos, seguido por la sonicación de la suspensión de microesferas durante 30 segundos en un pequeño sonicador de baño.
  - Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el contenido del ensayo se mezcle detenidamente. Entre los medios adecuados de mezcla se incluye mezclar la placa en un agitador de placa durante aproximadamente 30 segundos a 800 RPM aproximadamente, o ajustar una pipeta en

aproximadamente ½ del volumen en la placa y aspirar y expulsar repetidamente (bomba arriba y bomba abajo) el contenido del pocillo durante un mínimo de 5 ciclos.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Control negativo	Etc.
B	Control positivo	
C	Paciente 1	
D	Paciente 2	
E	Paciente 3	
F	Paciente 4	
G	Paciente 5	
H	Paciente 6	

- Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente SAVe Diluent\*) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente. **NOTA: El diluyente SAVe Diluent\* sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.** Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que las disoluciones de muestra se mezclen detenidamente según el punto 2b.
- Después de determinar el número total de pocillos a procesar, utilice una pipeta multicanal o repetidora para dispensar 50 µL de suspensión de microesferas dentro de cada uno de los pocillos de la platina de filtración.
- Transfiera 10 µL de cada muestra diluida (1:21) y el control de la placa de disolución a la placa de filtración. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que las disoluciones de muestra se mezclen detenidamente según el punto 2b.
- Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 30 ± 10 minutos.
- Después de la incubación, enjuague las microesferas mediante filtrado al vacío usando el tampón de lavado que se suministra diluido en la concentración 1x.
  - Coloque la placa de filtración sobre el colector de vacío y extraiga la solución, dejando las microesferas detrás.
  - Apague el vacío y añada 200 µL de Tampón de Lavado diluido 1x.
  - Aplique el vacío y extraiga la solución.
  - Repita los pasos 7b y 7c para un total de tres lavados.
- A continuación del lavado final, secar suavemente el fondo de la placa y permitir que la placa se seque al aire durante 3 a 5 minutos antes de continuar con el siguiente paso.
- Agregue 150 µl de conjugado a cada micropocillo a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el conjugado y la suspensión de microesferas se mezclen detenidamente según el punto 2b. Como una opción, mientras mezcle el conjugado y las microesferas, puede transferir la mezcla a pocillos vacíos de una placa de reacción de poliestireno.
- Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 30 ± 10 minutos.
- Instale el instrumento **AtheNA Multi-Lyte** para analizar las reacciones. Para ello, seleccione la plantilla RF IgM Plus. Consulte el manual del operador para obtener detalles sobre la operación del instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. Los resultados se pueden leer en la placa del filtro o en una placa de reacción. **NOTA: Para obtener un análisis adecuado del espécimen, es importante que el instrumento se instale, calibre y mantenga de acuerdo con las instrucciones del fabricante.** Consulte el manual del instrumento para obtener información sobre la preparación del instrumento antes de la lectura de los resultados del ensayo.
- La placa deberá leerse en los 60 minutos posteriores a la adición de la incubación del conjugado. Es posible que decida agitar la placa durante unos 15 segundos antes de la lectura. Este paso opcional puede reducir la cantidad de tiempo necesario para leer la placa.

Paso	Procedimiento de prueba abreviado
1	Diluya las muestras al 1:21 en SAVe Diluent®. Mezcle bien.
2	Combine 50 µL de suspensión de microesferas con 10 µL de la muestra diluido en un pocillo vacío. Mezcle bien.
3	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos.
4	Enjuague las microesferas 3 veces con 200 µL de tampón de lavado (1x).
5	Seque suavemente el fondo de la placa y secar con aire durante 3 a 5 minutos.
6	Agregue 150 µL de conjugado en cada pocillo. Mezcle bien.
7	Transfíralo a una placa de reacción (opcional).
8	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos
9	Agite la placa (opcional).
10	Lea los resultados dentro de un periodo de 60 minutos.

### CONTROL DE CALIDAD

**Precaución:** Los controles positivo y negativo tienen como fin supervisar cualquier fallo importante del reactivo. El Control Positivo no asegurará la precisión del límite de referencia del ensayo.

- Cada vez que se realiza el ensayo, es necesario incluir el Control Negativo (en el pocillo A1) y el Control Positivo (en el pocillo B1).
- La validez de la tirada se determina mediante la realización de los controles positivos y negativos. Estos criterios se analizan automáticamente mediante la *Intra-Well Calibration Technology*.
  - El control negativo y el control positivo deben ser todos negativos en la microesfera no específica o de antígeno de control.
  - El control negativo debe ser negativo para todos y cada uno de los analitos incluidos en la suspensión de microesferas.
  - El control positivo debe ser positivo para un grupo predeterminado de analitos que se incluyen en la suspensión de microesferas multiplexada. El control positivo debe arrojar un resultado FR positivo. Además del resultado cualitativo, el control positivo debe cumplir con las escalas predeterminados de actividad. Estos intervalos están codificados dentro del CD de calibración.
  - Si no se cumple ninguno de los criterios anteriores, toda la tirada se considerará como no válida y se tendrá que repetir. **En este caso, no comunique los resultados del paciente.**
- La validez de la muestra se basa en las características de las microesferas y sus interacciones con los sueros de los pacientes. Se supervisan diferentes parámetros automáticamente mediante la *Intra-Well Calibration Technology*. Si se determina que cualquiera de los criterios no cumple las especificaciones, los resultados del paciente se considerarán como no válidos y se deberán repetir. En caso de que esto se produzca, el informe de datos indicará la muestra en particular que se invalidó y el código de solución de problemas.
- Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas. Los controles externos deben ser representativos del suero humano normal debido a que el sistema de calibración **AtheNA Multi-Lyte** se basa parcialmente en las características de la muestra de suero. Si la formulación de la muestra es artificial (no es suero humano), se pueden producir resultados erróneos.
- Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles positivos y negativos para asegurar la funcionalidad de los reactivos y la ejecución adecuada del procedimiento del ensayo. Los requisitos de control de calidad se deben realizar en total cumplimiento con las normativas locales, autonómicas o estatales, o con los requisitos de acreditación y los procedimientos de control de Calidad normativos del laboratorio del usuario. Se recomienda que el usuario consulte CLSI EP12-A and 42 CFR 493.1256 para obtener información de ayuda sobre las prácticas de CC adecuadas.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### 1. Cálculos

- Calibración del ensayo: El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS utiliza la *Intra-Well Calibration Technology*. La *Intra-Well Calibration Technology* incluye una curva estándar con múltiples puntos dentro de la suspensión de microesferas. Con la *Intra-Well Calibration Technology*, cada pocillo del ensayo se calibra internamente sin que necesite la intervención del usuario. La curva estándar está diseñada para que se ajuste automáticamente basándose en las características únicas del paciente o suero de control. Los valores del calibrador se asignan de acuerdo con los estándares internos de ZEUS, son específicos del lote y están codificados en el CD de calibración del lote.
- Límite de referencia del analito: Cada analito del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS tiene un límite de referencia asignado. ZEUS determina los límites de referencia para cada lote de sistema de pruebas, y están codificados en el CD de calibración del lote.
- Mediante la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*, todos los cálculos se realizan automáticamente cuando se utiliza el sistema **AtheNA Multi-Lyte**. La tecnología *Intra-Well Calibration Technology* ejecuta un análisis de regresión de las normativas internas, y a continuación ajusta los valores de unidad calculados basándose en una normativa adicional y en las características de la muestra de suero.

### 2. Interpretaciones

Los resultados del ensayo de **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS se pueden interpretar de la siguiente manera:

	Valor unitario
Muestras negativas	< 6 IU/ml
Muestras positivas	≥ 6 IU/ml
Muestras positivas fuertes	>25 IU/ml

## LIMITACIONES DEL ENSAYO

- El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS es una herramienta para el diagnóstico, pero no es en sí una prueba diagnóstica. Los resultados de la prueba se deben interpretar junto con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos diagnósticos.
- Debido a la naturaleza homogénea de este ensayo, las muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas pueden interferir con el resultado de este ensayo. Además, los especímenes con concentraciones de IgC anormales pueden interferir con el resultado de este ensayo. Debe evitarse el uso de estos tipos de muestras.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de artritis reumatoide. Aproximadamente el 25% de los pacientes diagnosticados con artritis reumatoide pueden producir resultados negativos de FR.

## RESULTADOS ESPERADOS

En la sangre del grupo de donantes normales había un total de 148 muestras. De las 148 muestras, 128/148 (86,5%) fueron negativas, 18/148 (12,2%) fueron dudosas y 2/148 (1,4%) ofrecieron resultados positivos fuertes. De las muestras clínicas (las que estaban diagnosticadas con artritis reumatoide), 1/150 (0,7%) fueron negativas y 149/150 (99,3%) ofrecieron resultados positivos. De las 149 muestras, 12/149 (8%) fueron negativas, y 137/149 (92%) ofrecieron resultados positivos fuertes. El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS se calibró de acuerdo con un estándar proporcionado por la Organización Mundial de la Salud (OMS). El ensayo se calibró de acuerdo con OMS 64/2 que posee un valor definido de 25 IU/ml. Cuando se analizó utilizando el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM de ZEUS, se obtuvo un resultado de 24,25 IU/ml con este estándar.

## CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

### 1. Estudio comparativo

Se ha realizado un estudio comparativo interno para demostrar la equivalencia del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS con el sistema de pruebas ELISA RF IgM comercializado. El rendimiento se evaluó usando 450 muestras: 150 de sueros de donantes normales, 150 muestras enviadas previamente a un laboratorio para una prueba de FR rutinaria, y 150 muestras de pacientes diagnosticados clínicamente con artritis reumatoide. Los resultados de la investigación se resumen en la tabla 1, a continuación.

**Tabla 1: Rendimiento del resultado ANA cualitativo del sistema de prueba AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus de ZEUS**

		Resultado de ELISA		
		Positivo	Negativo	Total
Resultados AtheNA	Positivo	308	11	319
	Negativo	0	129	129
	Total	308	140	448*

Intervalo de confianza del 95%

Sensibilidad relativa	100%	98,21 – 99,99
Especificidad relativa	92,1%	86,38 – 96,01
Concordancia relativa	97,5%	95,65 – 98,77

\*NOTA: Originalmente se incluyeron 450 muestras en el estudio. Dos de las muestras produjeron resultados no válidos en el ensayo AtheNA RF y por lo tanto se excluyeron del resumen de datos anterior.

### Evaluación de la especificidad clínica del sistema de prueba AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus de ZEUS:

La especificidad clínica del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS se evaluó mediante 150 muestras de donantes normales, dado que se partía de la base de que dicho grupo no presentaría el anticuerpo FR IgM. Utilizando este grupo, 128/148 dieron negativo para el anticuerpo IgM FR. Por tanto, la especificidad clínica del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS se determinó en 86,5%. Expresado como un intervalo de confianza del 95%, la especificidad clínica se determinó en un rango de 0,799 a 0,916.

### Evaluación de la sensibilidad clínica del sistema de prueba AtheNA Multi-Lyte RF IgM:

La sensibilidad clínica del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS se evaluó utilizando 150 muestras de suero definidas clínicamente de pacientes diagnosticados con artritis reumatoide. Utilizando este grupo, 149/150 dieron negativo para el anticuerpo FR IgM. Por tanto, la sensibilidad clínica del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus de ZEUS se determinó en 99,3%. Expresado como un intervalo de confianza del 95%, la especificidad clínica se determinó en un rango de 0,963 a 0,999.

### 2. Reproducibilidad

Se llevó a cabo una evaluación en nuestros laboratorios del intraensayo y de la reproducibilidad del intraensayo. Se probaron seis muestras. En cada día de prueba, cada muestra se diluyó dos veces y después de cargó para cuatro replicados, resultando en un total de ocho pozuelos para cada una de las seis muestras. Este protocolo se siguió durante tres días. Los resultados se utilizaron para calcular valores medios en UI/ml, desviaciones típicas y porcentaje de coeficiente de variación (CV). Las muestras se seleccionaron de tal manera que resultó que dos de ellas eran claramente negativas, dos eran claramente positivas y se seleccionaron dos que eran positivas débiles. Los resultados se resumen en las Tablas 2 y 3, a continuación:

**Tabla 2: Datos de precisión de AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus de ZEUS**

ID de la muestra	Característica	Resultados día 1		Resultados día 2		Resultados día 3	
		Dilución 1	Dilución 2	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 1	Dilución 2
1	Negativo	1	1	2	1	1	1
		1	1	1	2	1	1
		1	1	2	2	1	1
		1	1	1	1	1	1
2		1	1	4	1	1	1
		1	1	1	2	1	1
		1	1	2	2	1	1
		1	1	1	2	1	1
3	Positivo fuerte	226	197	193	185	209	219
		200	204	230	214	226	211
		224	226	196	202	217	213
		207	217	192	218	220	203
4		163	166	172	1744	162	158
		163	145	198	160	144	158
		152	162	191	174	165	151
		146	160	167	175	154	157
5	Positivo	9	8	9	9	11	9
		9	8	8	9	10	8
		10	11	9	9	10	10
		9	8	10	10	10	9
6		8	8	10	9	10	9
		10	9	8	7	9	9
		8	8	10	7	11	10
		10	9	9	8	9	8

**Tabla 3: Resumen de las pruebas de precisión de AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus de ZEUS**

ID de la muestra	Cálculos	Precisión interensayo			Precisión interensayo
		Día 1	Día 2	Día 3	
1	VI	1	2	1	1
	DE	0	0,534522	0	0,38069
	%CV	0	35,6	0	32,6
2	VI	1	2	1	1
	DE	0	0,991031	0	0,69025
	%CV	0	52,9	0	53,4
3	VI	213	204	215	210
	DE	12,04678	15,42493	7,225945	12,49630
	%CV	5,7	7,6	3,4	5,9
4	VI	157	176	156	163
	DE	8,253787	12,36282	6,53425	13,07164
	%CV	5,3	7,0	4,2	8,0
5	VI	9	9	10	9
	DE	1,069045	0,64087	0,916125	0,89685
	%CV	11,9	7,0	9,5	9,7
6	VI	9	9	9	9
	DE	0,886405	1,195229	0,916125	1,03472
	%CV	10,1	14,1	9,8	11,7

**3. Reactividad cruzada y sustancias interferentes**

El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus de ZEUS** se evaluó por si presentaba reactividad cruzada con otros anticuerpos e interferencias de componentes del suero. Para este estudio, se evaluaron un total de 38 muestras. 18 muestras que dieron positivo para diferentes anticuerpos de enfermedades autoinmunitarias e infecciosas se probaron en el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus de ZEUS**. De las 18 muestras evaluadas, dos resultaron reactivas al ensayo **AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus de ZEUS**. Una de las dos también resultó reactiva al ensayo ELISA RF IgM. Se evaluaron un total de 20 muestras que contenían sustancias potencialmente interferentes. Estos 20 especímenes contenían, o bien, niveles anormales de hemólisis (n=5), bilirubina (n=5), concentración de IgG por encima de lo normal (n=5), o bien, niveles de lípidos por encima de lo normal (n=5). Cuatro de las muestras resultaron positivas débiles utilizando el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus de ZEUS**. Una de las cuatro también resultó reactiva al ensayo ELISA RF IgM.

**REFERENCIAS**

1. Turgeon, M.L.: Rheumatoid Arthritis. In: Immunology and Serology in Laboratory Medicine, 2<sup>nd</sup> Ed. Shanahan, J., ed. Mosby Year Book Inc., St.Louis, MO, Ch.28,pp:387-398. 1996.
2. Wilske, K., Yocum, D.: Rheumatoid Arthritis: The Status and Future of Combination Therapy. J. of Rheumatol. Vol 23 (suppl 44):1. 1996.
3. Jackson, G.: Immunodeficiencies and Autoimmune Disorders, In: Clinical Laboratory Medicine, Tilton, R. et. al. Eds. Mosby Year Book Inc., St. Louis, MO, Ch.36,pp:485-504. 1992.
4. Richardson, C., Emery, P. Laboratory Markers of Disease Activity. J. of Rheumatol. Vol 23(suppl 44),pp:23-30. 1996.
5. Zuraw, B., et.al. Immunoglobulin E-Rheumatoid Factor in the Serum of Patients with RA, Asthma, and Other Diseases, J. Clin. Invest., (68),1610. 1981.
6. Wolfe, F. The Natural History of Rheumatoid Arthritis. J. of Rheumatol. Vol.23(suppl 44):13-22. 1996.
7. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture - Second edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.

8. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
9. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
10. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4<sup>th</sup> Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



**ZEUS Scientific, Inc.**

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, EE. UU.

Llamada gratuita (EE. UU.): 1-800-286-2111, opción 2

Internacional: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Página Web: [www.zeusscientific.com](http://www.zeusscientific.com)

**AtheNA Multi-Lyte** y **SAVe Diluent** son marcas registradas de ZEUS Scientific, Inc.

ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** Sistema de prueba RF IgM Plus

Para consultas al Servicio de atención al cliente en EE.UU., contacte con su distribuidor local.

Para consultas al Soporte técnico, contacte con ZEUS Scientific, llame de forma gratuita o escriba a [support@zeusscientific.com](mailto:support@zeusscientific.com).

Para consultas al Servicio de atención al cliente y al Soporte técnico desde fuera de EE.UU., contacte con su distribuidor local.

© 2015 ZEUS Scientific, Inc. Todos los derechos reservados.

<b>EC</b>	<b>REP</b>	<b>EMERGO EUROPE</b> Molenstraat 15 2513 BH, The Hague The Netherlands Tel: +31 (0)70 345 8570 Fax: +31 (0)70 346 7299 (Fecha rev.9/15/2015)
-----------	------------	--