







<b>REF 43735</b> 	<b>ZENIT RA GBM</b>		<b>Distribuido por</b> 
<b>INSTRUCCIONES DE USO</b>		  <b>50</b>	

## USO PREVISTO

El análisis *ZENIT RA GBM* es un inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA) para la determinación cuantitativa, mediante el analizador *ZENIT RA*, de los anticuerpos específicos de clase IgG contra la membrana basal glomerular (MBG), en muestras de suero o plasma humano (EDTA, citrato de sodio).

Esta prueba se emplea como auxilio diagnóstico en la evaluación del síndrome de Goodpasture y en el diagnóstico diferencial de las vasculitis.

**ATENCIÓN:** las decisiones médicas no pueden basarse únicamente en el resultado de este análisis, sino que deben fundamentarse en el conjunto de todos los datos clínicos y de laboratorio disponibles.

## IMPORTANCIA CLÍNICA

Los anticuerpos anti membrana basal glomerular (anti MBG) son el marcador serológico de una rara enfermedad autoinmune, caracterizada clínicamente por una glomerulonefritis de rápida evolución e histológicamente por glomerulonefritis necrotizante extracapilar con inmunofluorescencia lineal (glomerulonefritis de anticuerpos anti MBG). Cuando al mismo tiempo se ven afectados los pulmones (alveolitis hemorrágica), la enfermedad toma el nombre de síndrome de Goodpasture (GP)<sup>1</sup>.

El papel patogénico de los anticuerpos está comprobado, pues el daño tisular está mediado por el ligado de los anticuerpos anti MBG a la membrana basal glomerular (y alveolar)<sup>2</sup>.

El autoantígeno blanco se ha identificado en el dominio no colagénico (NC1) en la cadena  $\alpha 3$  del colágeno de tipo IV presente solamente en las membranas basales del riñón, pulmón, cóclea y ojo<sup>3</sup>.

El síndrome de Goodpasture es una enfermedad muy grave que, sin un tratamiento rápido y adecuado, a menudo tiene un curso fulminante<sup>4</sup>. Pese a los avances terapéuticos, la supervivencia del paciente y del órgano dependen estrechamente del grado de insuficiencia renal en el momento de manifestarse, por consiguiente el diagnóstico precoz es fundamental para la supervivencia del paciente y la recuperación de la función renal.

El diagnóstico de enfermedad por anticuerpos anti MBG o de GP se funda en demostrar, a través del método de inmunofluorescencia directa en biopsia renal, que existen depósitos lineales de inmunoglobulinas en la membrana basal glomerular. Sin embargo, en muchas situaciones la biopsia renal no puede efectuarse o es necesario posponerla, por tanto el diagnóstico serológico adquiere un papel fundamental. Los anti MBG circulantes pueden detectarse mediante inmunofluorescencia indirecta en riñón de primates; el método se caracteriza por una elevada especificidad pero su sensibilidad no es adecuada<sup>5</sup>. Actualmente se dispone de métodos de determinación inmunométricos, cuantitativos y antígeno específicos basados en métodos ELISA, fluoroinmunoenzimáticos y quimioluminiscentes que utilizan la MBG entera solubilizada, la cadena  $\alpha 3$  (IV) del colágeno y, más recientemente, el antígeno de GP en forma recombinante humana<sup>6</sup>. La sensibilidad diagnóstica de las pruebas antígeno específicas es muy elevada, entre el 94,7 y el 100%<sup>6</sup>. Datos muy recientes confirman que, pese a las excelentes prestaciones diagnósticas de los métodos, en alrededor del 5% de los pacientes que sufren de enfermedad de anticuerpos anti MBG / síndrome de Goodpasture no se detectan autoanticuerpos circulantes<sup>7</sup>.

Por su importancia clínica y por los elevados valores predictivos, la búsqueda de anticuerpos anti MBG se indica en el estudio diagnóstico de pacientes con cuadros clínicos de insuficiencia renal de origen desconocido con microhematuria, en especial modo en aquellos casos de evolución rápida.

El título de los anticuerpos anti MBG circulantes es de utilidad en la prognosis<sup>8</sup>.

Aproximadamente en un tercio de los pacientes que presentan un síndrome renal-pulmonar pueden detectarse anticuerpos anti MBG.

Los anticuerpos anti MBG son los directos responsables del daño al órgano, por consiguiente se considera muy útil monitorizarlos para controlar el tratamiento, especialmente la plasmaféresis. En los pacientes a la espera de un trasplante de riñón, la negatividad persistente a los anti MBG es una condición indispensable, pues reduce al mínimo la posibilidad de que la enfermedad pueda presentarse nuevamente en el órgano transplantado.

Dado que también las vasculitis sistémicas asociadas a ANCA pueden manifestarse con un cuadro clínico de GN en rápida evolución, es útil buscar también los ANCA al tiempo que se investigan los anti MBG. Conviene recordar que en un porcentaje importante de pacientes con anti MBG (10-38%) se encuentran contemporáneamente ANCA, generalmente con especificidad para la mieloperoxidasa (ANCA-MPO), cuyo significado clínico no es claro<sup>6,9,10</sup>. A veces, un cuadro de GNRP puede ser secundario a patologías sistémicas del conectivo o de infecciones.

En cuanto a la utilidad diagnóstica del dato de laboratorio, conviene recordar que los valores predictivos positivo y negativo (VPP, VPN) dependen no sólo de la sensibilidad y especificidad del análisis sino también de la prevalencia de la enfermedad en la población investigada. Un pedido adecuado (elevada probabilidad pre análisis) permite obtener un resultado de utilidad clínica real y disminuye notablemente la posibilidad de resultados falsamente positivos.

## PRINCIPIO DEL MÉTODO

---

El análisis *ZENIT RA GBM* para la determinación cuantitativa de las IgG específicas anti membrana basal glomerular utiliza un método inmunológico indirecto de dos pasos basado en el principio de la quimioluminiscencia.

Las partículas magnéticas se recubren con antígeno altamente purificado NC1 $\alpha$ 3 (IV) (fase sólida); un anticuerpo anti IgG humana se marca con un derivado del éster de acridinio (conjugado).

Durante la primera incubación, los anticuerpos específicos presentes en la muestra, los calibradores o los controles se ligan a la fase sólida.

Durante la segunda incubación, el conjugado reacciona con los anticuerpos anti MBG capturados en la fase sólida.

Después de cada incubación, el material no ligado a la fase sólida se elimina mediante aspiración y sucesivo lavado.

La cantidad de conjugado marcado que permanece ligado a la fase sólida se evalúa activando la reacción de quimioluminiscencia y la medición de la señal luminosa. La señal generada, expresada en unidades relativas de luz (RLU, Relative Light Unit), indica la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra, los calibradores o los controles.

## AUTOMACIÓN

---

El analizador *ZENIT RA* efectúa automáticamente todas las operaciones establecidas en el protocolo de análisis: dispensación en el recipiente de reacción de muestras, calibradores, controles, partículas magnéticas, conjugado y soluciones de activación de la quimioluminiscencia; separación magnética y lavado de las partículas; medición de la luz emitida.

El sistema calcula los resultados del análisis para las muestras y los controles mediante una curva de calibración memorizada, e imprime un informe con todos los datos relativos al análisis y al paciente.

## MATERIALES Y REACTIVOS

---

### Materiales y reactivos suministrados

REAG	1	MP	2.5 mL
------	---	----	--------

Partículas magnéticas recubiertas con antígeno altamente purificado NC1 $\alpha$ 3 (IV) en tampón fosfato que contiene proteínas estabilizadoras, un tensoactivo, Pro-Clin 300 y azida de sodio (< 0,1 %) como conservantes.

REAG	2	CONJ	15 mL
------	---	------	-------

Anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgG humana marcado con un derivado del éster de acridinio (conjugado), en tampón fosfato que contiene proteínas estabilizadoras y azida de sodio (< 0,1 %) como conservante.

REAG	3	DIL	25 mL
------	---	-----	-------

Solución diluyente de muestras: tampón fosfato que contiene seroalbúmina bovina, un tensoactivo, un colorante azul y azida de sodio (< 0,1 %) como conservante.

REAG	4	CAL A	1.6 mL
------	---	-------	--------

Suero humano con baja concentración de anticuerpos anti MBG IgG en tampón fosfato que contiene seroalbúmina bovina, un tensoactivo, un colorante azul inerte, Pro-Clin 300 y gentamicina SO<sub>4</sub> como conservantes.

REAG	5	CAL B	1.6 mL
------	---	-------	--------

Suero humano con elevada concentración de anticuerpos ant MBG en tampón fosfato que contiene seroalbúmina bovina, un tensoactivo, un colorante azul inerte, Pro-Clin 300 y gentamicina SO<sub>4</sub> como conservantes.

Los reactivos están listos para su uso.

Los reactivos 1, 2 y 3 están reunidos en un único cartucho de reactivos.

Las concentraciones de los calibradores se expresan en UA/mL (unidades arbitrarias) y han sido calibradas frente a un estándar de referencia interno. Los valores de las concentraciones, específicos para cada lote de producto, están registrados en el disco de datos que forma parte del kit.

#### DISCO DE DATOS

Es un mini DVD con las informaciones relativas a los productos de la línea ZENIT RA (reactivos, calibradores, sueros de control) actualizadas al último lote de producción; se excluyen los productos caducados en la fecha de preparación del nuevo disco de datos.

Para mantener actualizadas las informaciones necesarias para el funcionamiento correcto del sistema, es suficiente conservar el disco de datos con el número de lote más alto.

#### Materiales y reactivos necesarios no incluidos en el kit

- Analizador ZENIT RA Cod. No. 41400
- Cubo de cubetas ZENIT RA \* Cod. No. 41402  
Paquete de 960 cubetas.

- Líquido de sistema ZENIT RA \* Cod. No. 41409  
1 botella de 0,5 litro de solución 10x.
- Solución de lavado ZENIT RA \* Cod. No. 41407  
1 botella de 0,5 litro de solución 20x.
- Activadores ZENIT RA \* Cod. No. 41403  
1 frasco de 250 mL de Activador A (solución de preactivación)  
1 frasco de 250 mL de Activador B (solución de activación)
- Solución ZENIT RA D-SORB Cod. No. 41436  
Paquete de 2 botellas de 1 litro de solución lista para su uso.
- Cartucho de control ZENIT RA \* Cod. No. 41401
- Tapones ZENIT RA Top Cap Set Cod. No. 41566  
300 tapones rojos para cerrar los envases de calibradores después de usarlos por primera vez.

(\*) El analizador ZENIT RA y los accesorios indicados con asterisco son fabricados por Immunodiagnostic Systems S.A., Rue E. Solvay, 101, B-4000 Lieja, Bélgica, y distribuidos por A. Menarini Diagnostics Srl.

#### Otros reactivos aconsejados

CONTROLES ANCA/GBM ZENIT RA Cod. No. 41449  
3 ampollas de 1,5 mL de suero humano negativo y 3 ampollas de 1,5 mL de suero humano positivo a anticuerpos anti MBG.

#### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

---

Los reactivos del kit *ZENIT RA GBM* son exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro* y no deben usarse en vivo en personas ni animales.

Este producto debe ser utilizado por profesionales del sector respetando escrupulosamente las instrucciones contenidas en este documento.

Menarini declina toda responsabilidad por pérdidas o daños provocados por utilizar el producto sin respetar las instrucciones dadas.

### Precauciones de seguridad

Este producto contiene materiales de origen animal y debe manipularse como si se tratara de agentes infecciosos.

Este producto contiene materiales de origen humano. Las unidades de suero o plasma utilizadas en la fabricación de los reactivos de este kit se analizaron con métodos aprobados por la FDA y resultaron negativas a la presencia de HBsAg, anti-VHC, anti-VHI1 y anti-VHI2.

Pese a ello, y dado que ningún método de análisis puede garantizar la total ausencia de agentes patógenos, el material de origen humano debe considerarse potencialmente infeccioso y debe ser manipulado como tal.

En caso de daños al envase y derrame de reactivos, descontaminar el área interesada con una solución diluida de hipoclorito de sodio; utilizar adecuadas protecciones personales (guardapolvo, guantes, gafas).

El material empleado para la limpieza y los restos del envase afectados por el derrame fortuito deben eliminarse conforme a las normas nacionales para la eliminación de residuos potencialmente infecciosos.

Algunos reactivos contienen azida de sodio como conservante. Dado que la azida de sodio puede reaccionar con el plomo, el cobre y el latón plomado formando azidas explosivas en las tuberías; aconsejamos no eliminar reactivos o residuos en el desagüe; respétense las normas nacionales de eliminación de residuos potencialmente peligrosos.

### Precauciones operativas

Para lograr resultados fiables es necesario atenerse estrictamente a estas instrucciones de uso y seguir escrupulosamente lo indicado en el manual operativo del instrumento.

Los reactivos del kit deben utilizarse exclusivamente con el sistema del analizador *ZENIT RA*.

Los elementos del cartucho de reactivos no pueden separarse ni reensamblarse.

No utilizar el kit después de la fecha de caducidad.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

---

Los reactivos del kit están listos para su uso.

## CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

---

Conservar los reactivos del kit a temperatura entre 2 y 8 °C, en posición vertical y a oscuras.

En estas condiciones, el cartucho de reactivos y los calibradores no abiertos permanecen estables hasta la fecha de caducidad.

Una vez abierto, el cartucho de reactivos tiene una validez de 60 días si se conserva en refrigerador a 2-8 °C o bien dentro del analizador.

Una vez abiertos, los calibradores tienen una validez de 60 días si se conservan en refrigerador a 2-8 °C y siempre que la permanencia dentro del analizador no sea superior a 6 horas por sesión.

No congelar los reactivos ni los calibradores.

## PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

---

El análisis se efectúa en muestras de suero y plasma humano (EDTA, citrato de sodio).

Se aconseja no utilizar muestras lipémicas, hemolizadas o turbias.

Si el análisis se efectúa pasadas las 8 horas, separar el suero o el plasma del coágulo, de los glóbulos rojos y de las probetas de separación con gel.

Antes de analizarlas, las muestras se conservan en refrigerador a 2-8 °C por un máximo de 7 días.

Si el análisis se efectúa transcurridos más de 7 días, congelar las muestras (< - 20 °C).

Evítese congelar y descongelar repetidamente las muestras.

## PROCEDIMIENTO

---

Para obtener resultados analíticos fiables, atenerse escrupulosamente a las instrucciones del manual operativo del instrumento.

### Cargar los reactivos

Los reactivos del kit están listos para su uso.

Antes de introducir el cartucho de reactivos en el sistema, agitar el recipiente de las partículas magnéticas con un movimiento de rotación horizontal de modo que las partículas queden en suspensión. Al efectuar esta operación, evítase la formación de espuma.

Colocar el cartucho de reactivos en el área de reactivos del instrumento mediante la guía y agitar por lo menos 60 minutos antes de usar.

En el momento mismo en que se coloca el cartucho de reactivos, se lee también el código de barras de identificación. Si la etiqueta del cartucho estuviera dañada o el código no fuera leído, los datos de identificación del cartucho de reactivos se pueden introducir manualmente.

El instrumento mantiene automáticamente en agitación continua las partículas magnéticas. Si se retira el cartucho de reactivos del instrumento, se lo debe conservar en posición vertical y a oscuras, a temperatura de 2-8 °C.

### Cargar los calibradores

Los calibradores ZENIT RA están listos para su uso. Dejarlos 10 minutos a temperatura ambiente y agitar suavemente el contenido, manualmente o mediante vórtex, evitando la formación de espuma.

Cuando se utilizan por primera vez los calibradores, quitar el sello de garantía y el tapón blanco de cierre antes de introducirlos en el instrumento.

Si los calibradores ya han sido utilizados, el recipiente tendrá un tapón rojo y carecerá de sello de garantía. Sacar el tapón rojo antes de introducirlos en el instrumento.

Colocar los calibradores en el área de muestras del instrumento; para su identificación dentro del instrumento, consultar el manual de uso del instrumento. Si la etiqueta del código de barras estuviera dañada o el código no fuera leído, los datos del mismo se introducen manualmente.

Los valores de concentración de anticuerpos IgG anti MBG presentes en los calibradores están registrados en el disco de datos y se transfieren automáticamente al analizador.

Una vez terminada la sesión, cerrar los recipientes de calibradores con los correspondientes tapones rojos y conservarlos a 2-8 °C hasta volver a utilizarlos.

Los calibradores pueden utilizarse hasta un máximo de cuatro veces.

### Cargar los controles

Colocar los controles en el área de muestras del instrumento. Para la identificación dentro del instrumento, consultar el manual de uso del instrumento. Si el control carece de código

de barras o si éste no es leído, los datos de identificación del control se pueden introducir manualmente. Si se utilizan controles Zenit RA, consúltense las respectivas instrucciones de uso. Los valores de concentración de anticuerpos IgG anti MBG presentes en los controles Zenit RA están registrados en el disco de datos y se transfieren automáticamente al analizador. Para cada control, seleccionar los parámetros que se piden.

### Cargar las muestras

Introducir las muestras en el área de muestras del instrumento; para la identificación dentro del instrumento, consultar el manual de uso del instrumento. Si la muestra carece de código de barras o si éste no es leído, los datos de identificación del control se pueden introducir manualmente.

Para cada muestra, seleccionar los parámetros que se piden.

### Calibración

El analizador *ZENIT RA* utiliza una curva de calibración memorizada (curva maestra), generada por el fabricante para cada lote de cartucho de reactivos.

Los parámetros de la curva maestra, así como los valores de las concentraciones de los calibradores, están memorizados en el disco de datos y se transfieren a la base de datos del instrumento.

Los calibradores A y B se utilizan para recalibrar la curva maestra en función tanto del instrumento utilizado como de los reactivos cargados en el mismo.

Para recalibrar, analizar por triplicado los dos calibradores A y B y una sola vez los controles. Los valores de concentración obtenidos con los controles permiten validar la nueva calibración.

Una vez aceptada y memorizada la recalibración de la curva maestra, las muestras sucesivas podrán analizarse sin necesidad de nueva calibración excepto en los casos que se indican a continuación:

- cuando en el instrumento se carga un cartucho de reactivos de un nuevo lote;
- cuando los valores de los controles no están dentro de los límites aceptables;
- cuando se efectúa el mantenimiento del instrumento;
- cuando caduca la validez de la curva maestra recalibrada.

La validez de la curva maestra recalibrada para el kit *ZENIT RA GBM* es de 21 días.

El instrumento gestiona la recalibración de manera automática.

### Análisis

Pulsar la tecla de puesta en marcha.

1. El sistema aspira 80 µL de diluyente de muestras, 40 µL de partículas magnéticas, 100 µL de diluyente de muestras y 10 µL de muestra o control (para los calibradores, el suero positivo se suministra prediluido con el diluyente de muestras y el volumen aspirado es de 110 µL). Las soluciones y la suspensión aspiradas se dispensan en la cubeta de reacción.
2. La cubeta de reacción se incuba en el rotor a 37 °C durante 10 minutos.
3. Después de esta etapa de incubación, se separan y lavan las partículas magnéticas.
4. En la cubeta se dispensan 200 µL de conjugado.
5. La cubeta de reacción se incuba en el rotor a 37 °C durante 10 minutos.
6. Después de esta última incubación, se separan y lavan las partículas magnéticas y la cubeta es trasladada a la cámara de lectura.
7. La cantidad de conjugado ligado a la fase sólida, expresada en RLU, es directamente proporcional a la concentración de IgG anti MBG presente en la muestra.
8. Las respuestas obtenidas se interpolan en la curva de calibración y se transforman en concentraciones.

Las muestras cuyos valores de concentración son más altos que el límite superior del intervalo de medición se pueden diluir y analizar nuevamente. Para obtener el resultado final, el nuevo valor que se obtiene se multiplica por el factor de dilución utilizado.

### CONTROL DE CALIDAD

---

Para garantizar la validez del análisis, todos los días en que se efectúan análisis se deben medir sueros de control de diferentes niveles de concentración (por lo menos un suero negativo y un suero positivo).

Si el laboratorio de pertenencia pide un uso más frecuente o un número mayor de controles para la verificación de los resultados del análisis, síganse los procedimientos de control de calidad establecidos por el laboratorio mismo.

Si se utilizan los sueros de control ZENIT RA, los valores medios esperados y los límites de aceptabilidad están indicados en el disco de datos contenido también en el envase de los controles.

En caso de utilizarse otros sueros de control, antes del uso es necesario definir los valores esperados con reactivos y sistema ZENIT RA.

Si el valor de los controles no está dentro de los límites de aceptabilidad especificados, los resultados del análisis correspondiente no son válidos y las muestras se deben analizar nuevamente.

En este caso, antes de repetir el análisis es necesario efectuar una recalibración.

## CÁLCULO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### Cálculo de resultados

El sistema calcula automáticamente la concentración de anticuerpos IgG anti MBG presente en las muestras analizadas. Los valores se pueden leer en la pantalla o imprimirse.

Las concentraciones se expresan en UA/mL.

El cálculo de la concentración del analito en la muestra se efectúa leyendo la respuesta obtenida para cada muestra en una curva de calibración elaborada mediante un sistema de "fitting" logístico de cuatro parámetros (4PL, Y ponderado), periódicamente corregida en función de las respuestas obtenidas al analizar los calibradores.

Para informaciones detalladas sobre cómo el sistema calcula los resultados, consúltese el manual operativo del sistema.

### Interpretación de resultados

Los límites de medición del análisis *ZENIT RA GBM* son: 0,0 – 1000 UA/mL.

Los valores por debajo de 0,0 UA/mL son valores extrapolados, aparece el mensaje "OMR-" u ORA y se incluyen en el informe con valor "igual a 0,0 UA/mL".

Los valores por encima de 1000 UA/mL tienen el mensaje "OMR+" u ORA y se pueden analizar nuevamente después de la dilución adecuada.

Los resultados de las muestras se interpretan como sigue:

(UA/mL)	Interpretación
<40	La muestra se considera negativa a la presencia de IgG anti MBG

≥ 40 La muestra se considera positiva a la presencia de IgG anti MBG

---

Los valores arriba indicados son sólo valores sugeridos. Cada laboratorio debe establecer sus propios límites de referencia.

#### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

---

Con finalidades diagnósticas, los resultados obtenidos con el kit *ZENIT RA GBM* y el analizador *ZENIT RA* deben utilizarse en conjunto con los demás datos clínicos y de laboratorio a disposición del médico.

La contaminación bacteriana de las muestras y la inactivación por calor pueden influir en el resultado del análisis.

Los anticuerpos heterófilos presentes en las muestras de suero humano pueden reaccionar con los reactivos a base de inmunoglobulinas causando interferencias en los análisis inmunológicos *in vitro*. Estas muestras pueden dar lugar a valores anómalos si se analizan con el kit *ZENIT RA GBM*.

En algunos casos, las muestras de pacientes afectados de hepatopatías crónicas, infecciones crónicas, colagenopatías y mieloma con hipergammaglobulinemia (concentración de IgG superior a 1800 mg/dL) pueden presentar valores positivos de IgG anti MBG.

#### VALORES ESPERADOS

---

Se analizaron las muestras de 100 individuos sanos para verificar la presencia de anticuerpos IgG anti MBG.

Todas las muestras analizadas resultaron negativas, con un valor medio de 1,1 UA/mL y una desviación estándar de 3,2 UA/mL.

Con los resultados obtenidos se calculó el límite de blanco (LoB = el valor más alto que indica que no hay analito presente en una serie de muestras). El límite de blanco, determinado como 95º percentil de la población negativa, resultó de 6,3 UA/mL con el lote de reactivos nº 2.

#### SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Con el kit ZENIT RA GBM se analizaron 156 muestras, de las cuales 30 eran de pacientes afectados de síndrome de Goodpasture (GP); 2, de pacientes afectados de glomerulonefritis de rápida evolución (GNRP); 95, de pacientes afectados de diferentes patologías (18 conectivitis sistémicas, 12 vasculitis asociadas a ANCA, 15 artritis reumatoide, 4 celiaquía, 38 patologías infecciosas, 8 patologías varias) y 29 muestras de individuos sanos.

En la población supuestamente negativa estudiada (18 conectivitis sistémica, 12 vasculitis asociada ANCA, 15 artritis reumatoide, 4 celiaquía, 38 patologías infecciosas, 8 patologías varias y 29 muestras de individuos sanos), ninguna muestra resultó positiva.

- **Especificidad diagnóstica:** 100 % (intervalo de confianza al 95%: 96,3 - 99,9%); de 124 muestras, las 124 resultaron negativas.

En la población supuestamente positiva estudiada (30 muestras de pacientes afectados de síndrome de Goodpasture (GP) y 2 muestras de pacientes afectados de glomerulonefritis de evolución rápida), todas las muestras resultaron positivas.

- **Sensibilidad diagnóstica:** 100 % (intervalo de confianza al 95%: 86,7 - 99,7%); (32/32 muestras).

En base a los resultados de la especificidad y la sensibilidad diagnósticas, la concordancia diagnóstica es del 100 % (intervalo de confianza al 95%: 96,7 - 99,9%); (156/156 muestras).

## RENDIMIENTO

---

Advertencia: los datos que se dan a continuación no representan las especificaciones de funcionamiento del kit, sino que constituyen la evidencia experimental de cómo funciona el kit dentro de esas especificaciones en el modo previsto por el fabricante.

### Precisión y reproducibilidad

La **precisión** se calculó analizando los resultados de 20 repeticiones de cuatro sueros (uno negativo y tres positivos con diferentes concentraciones de IgG anti MBG) efectuados con dos lotes diferentes de reactivos en la misma sesión experimental.

La concentración del suero anti MBG IgG negativo (N4) resultó comprendida en los límites de 0,0 a 0,4 UA/mL con el lote de reactivos nº 2, y de 0,0 UA/mL con el lote de reactivos nº 3.

En la siguiente tabla se indican los resultados obtenidos con los 3 sueros positivos:

Muestra	Lote de reactivos nº	Concentración media (UA/mL)	DS (UA/mL)	CV %
P1	2	81,4	2,52	3,1
	3	64,7	2,07	3,2
P2	2	243,5	18,82	7,7
	3	270,9	11,88	4,4
P3	2	471,5	13,57	2,9
	3	371,9	12,06	3,2

La **reproducibilidad** se calculó analizando los resultados de la determinación de seis sueros (uno negativo y cinco positivos con diferentes concentraciones de IgG anti MBG) efectuada una sola vez en 14 sesiones diferentes con un lote de reactivos.

La concentración del suero anti MBG IgG negativo (EBV-N1) resultó comprendida en los límites de 0,5 a 2,2 UA/mL.

En la siguiente tabla se indican los resultados obtenidos con los cinco sueros positivos:

Muestra	Concentración media (UA/mL)	DS (UA/mL)	CV %
GBM-P1	51,2	4,62	9,0
GBM-P2	205,0	15,06	7,3
GBM-P3	296,3	28,84	9,7
GBM-P4	91,6	7,16	7,8
GBM-P5	222,8	18,68	8,4

#### Linealidad de las diluciones

Para evaluar la linealidad de las diluciones del ZENIT RA GBM, se analizaron diluciones escalares de tres sueros con elevada concentración de IgG anti MBG, efectuadas con el líquido de sistema.

En la siguiente tabla se resumen los resultados del estudio.

Muestra	Factor de dilución	Concentración medida (UA/mL)	concentración esperada (UA/mL)	Recuperación %
1	1	338.0	--	(100)
	2	169.0	169.0	100.0
	4	83.2	84.5	98.5
	8	42,1	42,3	99,5
2	1	353.3	-	(100)
	2	173.0	176.7	97.9
	4	93.0	88.3	105.3
	8	42.7	44.2	96.6
3	1	223.6	-	(100)
	2	124.0	111.8	110.9
	4	67,4	55,9	121,0
	8	33,9	28,0	121,1

Es necesario destacar que algunos sueros, medidos en diluciones diferentes, pueden dar resultados no lineales dentro de los límites de medición, pues el resultado depende no sólo de la concentración sino también de la afinidad de los anticuerpos presentes en la muestra.

#### Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del kit *ZENIT RA GBM*, expresada en cuanto **límite de detección** (*Limit of Detection – LoD*: es decir, la cantidad más pequeña de analito que el método puede medir) se evaluó utilizando para el cálculo la fórmula  $LoD = LoB + C_{\beta} SD_s$  (donde LoB es el valor del límite de blanco;  $SD_s$  representa la desviación estándar estimada de la distribución de la muestra con baja concentración, y  $C_{\beta}$  deriva del 95° percentil de la distribución estándar de Gauss).

Se utilizaron cinco muestras con baja concentración de analito, analizadas una sola vez con un lote de reactivos en 14 experimentos diferentes.

El límite de detección del kit *ZENIT RA GBM* resultó de 13,5 UA/mL.

Los valores del límite de detección, juntamente a las consideraciones de carácter clínico y los resultados de comparación con métodos de referencia contribuyeron a establecer el valor de cut-off.

#### Especificidad analítica: interferencias

En los resultados del análisis no influye la presencia de las sustancias potencialmente interferentes enumeradas en la siguiente tabla, hasta la concentración experimentada:

Sustancias potencialmente interferentes	Concentración máxima experimentada
Bilirrubina libre	20 mg/dL
Bilirrubina conjugada	20 mg/dL
Hemoglobina	1000 mg/dL
Triglicéridos	3000 mg/dL

Se aconseja no utilizar muestras lipémicas, hemolizadas o turbias.

#### Especificidad analítica: reacciones cruzadas

Para evaluar las potenciales reacciones cruzadas del antígeno utilizado para sensibilizar las micropartículas, se efectuó un estudio con 49 muestras, todos con elevado nivel de otros autoanticuerpos y negativos para anti MBG IgG.

Las muestras utilizadas estaban subdivididas como se indica: CCP o FR (15), Gliadina A o G o tTG-A (4), ANCA positivas (12) y ANA o ENA (18).

El estudio no mostró ninguna reacción cruzada significativa del antígeno en fase sólida con los otros autoanticuerpos.

#### Efecto de saturación en dosis elevadas

Algunos métodos inmunológicos utilizados para analizar muestras que contienen concentraciones sumamente elevadas del analito pueden dar niveles aparentes de analito subestimados (efecto Hook).

El método utilizado en el kit *ZENIT RA GBM* no resiente de dicho efecto porque es un método de dos incubaciones.

Una muestra con concentración sumamente elevada (por encima del límite de medición) de IgG anti MBG confirmó la ausencia de efecto Hook hasta la concentración de 1552 UA/mL.

#### Sensibilidad y especificidad relativas

La presencia de anticuerpos IgG anti MBG se determinó analizando 156 muestras con el kit *ZENIT RA GBM* y con un método de ensayo ELISA disponible en comercio; de las 156 muestras, 30 pertenecían a pacientes afectados de síndrome de Goodpasture (GP); 2, a pacientes afectados de glomerulonefritis de evolución rápida; 95, a pacientes afectados de diferentes patologías (18 conectivitis sistémicas, 12 vasculitis asociadas ANCA, 15 artritis

reumatoide, 4 celiaquía, 38 patologías infecciosas); 29 muestras pertenecían a individuos sanos.

En 5 de las muestras, los resultados fueron discordantes entre el ensayo ZENIT RA y el ensayo ELISA de venta en comercio.

Por tanto, la **concordancia relativa** resultó del 96,8 % (intervalo de confianza al 95%: 92,3 - 98,8%); (151/156 muestras).

La **sensibilidad relativa** resultó del 90,9 % (intervalo de confianza al 95%: 74,5 - 97,6%); (30/33 muestras).

La **especificidad relativa** resultó del 98,4 % (intervalo de confianza al 95%: 93,7 - 98,7%); (121/123 muestras).

Las tres muestras que resultaron negativas con el kit ZENIT RA GBM y positivas con el kit ELISA pertenecían: 1 al grupo de muestras con patologías infecciosas, 1 al grupo de muestras con patologías varias y 1 al grupo de muestras de individuos sanos.

Las dos muestras que resultaron positivas con el kit ZENIT RA GBM y negativas con el kit ELISA pertenecían ambas al grupo de muestras con síndrome de Goodpasture.

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. Salama AD, Levy JB, Lightstone, Pusey CD. Goodpasture's disease. Lancet 2001; 358: 917-20.
2. Lerner RA, Glasscock RJ, Dixon FJ, The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 1967; 126: 989-1004.
3. Hudson BG, Tryggvason K, Sundaramoorthy M, Neilson EG. Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome, and type IV collagen. N Engl J Med 2003; 348: 2543-56.
4. Levy JB, Turner AN, Rees AJ, Pusey CD. Long-term outcome of anti-glomerular basement membrane antibody disease treated with plasma-exchange and immunosuppression. Ann Int Med 2001; 134: 1033-42.
5. Wilson CB, Dixon FJ. Diagnosis of immunopathologic renal disease. Kidney Int 1974; 5: 389-401.

6. Sinico RA, Radice A, Corace C, Sabadini E. Anti-glomerular basement membrane antibodies in the diagnosis of Goodpasture syndrome: a comparison of different assays. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 397-401.
7. Mahler M, Radice A, Sinico RA, Damoiseaux J, Seaman A, Buckmelter K et al. Performance evaluation of a novel chemiluminescence assay for detection of anti-GBM antibodies: an International multicenter study. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27 (1): 243-52.
8. Segelmark M, Hellmark T, Wieslander J. The prognostic significance in Goodpasture's disease of specificity, titre and affinity of anti-glomerular-basement membrane antibodies. *Nephron Clin Pract* 2003; 94: 59-68.
9. Hellmark T, Niles JL, Collins AB, McCluskey RT, Brunmark C. Comparison of anti-GBM antibodies in sera with or without ANCA. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 376-85.
10. Levy JB, Hammad T, Coulthart A, Dougan T, Pusey CD. Clinical feature and outcome of patients with both ANCA and anti-GBM antibodies. *Kidney Int* 2004; 66: 1535-40.



**TECHNOGENETICS S.r.l.**  
Viale Casiraghi 471  
20099 – Sesto San Giovanni (MI) - Italia

## **ESPAÑA**

### **Distribuido por**

Menarini Diagnosticos S.A.  
Avda del Maresme, 120 - 08918 Badalona - Barcelona  
Tel. +34 93 50 71 000 - Fax +34 93 27 80 215  
[www.menarini.diag.es](http://www.menarini.diag.es)