



DCM110-6  
Ed. 01/2024

# Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG

per analisi di routine


Determinazione quantitativa degli anticorpi di classe IgG anti-β2-glicoproteina 1 nel siero o nel plasma umano

IVD

LOT

Vedere l'etichetta  
esterna

2°C  8°C

 Σ = 96 test

REF DKO110

## 1. DESTINAZIONE D'USO

Per uso diagnostico *in vitro*

Per uso professionale in laboratorio

Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG è un dispositivo diagnostico *manuale* in vitro destinato alla determinazione quantitativa degli anticorpi di classe IgG diretti contro la β2-glicoproteina 1 nel siero o nel plasma umano da una popolazione adulta.

## 2. RILEVANZA CLINICA

La beta-2-glicoproteina 1 (B2GP1) è una glicoproteina plasmatica legante i fosfolipidi con 326 aminoacidi, sintetizzata da epatociti, cellule endoteliali e trofoblasti, ed è organizzata in 5 brevi domini di consenso (I-V).

Gli autoanticorpi anti-B2GP1 (entrambe le classi IgG e IgM) sono anche definiti anticorpi antifosfolipidi (aPL). Gli autoanticorpi anti-B2GP1 fanno parte di una classe più ampia di aPL che comprende anche gli autoanticorpi anti-cardiolipina e il lupus anticoagulante.

Il dominio 1 di B2GP1 è considerato la componente autoantigenica più rilevante dal punto di vista clinico ed è specificamente correlato alla malattia autoimmune nota come sindrome antifosfolipidica (APS) (7-9)<sup>1-3</sup>. Inoltre, alcuni studi suggeriscono che, tra gli aPL, gli anticorpi anti-B2GP1 siano i marcatori clinicamente più rilevanti nella diagnosi di APS (2,6,8)<sup>2,4-5</sup>.

L'APS è una malattia autoimmune caratterizzata da trombosi vascolari ricorrenti (APS trombotica) e da complicanze legate alla gravidanza (APS ostetrica) (3)<sup>6</sup>, unite alla presenza e alla persistenza di aPL nei sieri dei pazienti<sup>1</sup>. L'APS può manifestarsi da sola (APS primaria) o associata ad altre malattie autoimmuni sistemiche come il lupus eritematoso sistemico (APS secondaria).

## 3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG è un dosaggio immunometrico enzimatico (ELISA) a sandwich in due fasi in cui i campioni dei pazienti, i calibratori o i controlli sono incubati su piastre per microtitolazione rivestite con β2-glicoproteina 1. Durante l'incubazione, gli anticorpi presenti nel campione di test si legano all'antigene immobilizzato. Dopo l'incubazione, la separazione del legato dal libero viene eseguita con un semplice lavaggio della fase solida.

Una successiva incubazione si verifica con anti-IgG umane coniugate con perossidasi di rafano (HRP), che si lega agli anticorpi immobilizzati. Viene eseguita un'ulteriore fase di lavaggio per rimuovere il coniugato in eccesso. Una soluzione di substrato cromogenico contenente TMB viene quindi erogata nei pozzetti, e reagisce con l'HRP coniugato determinando lo sviluppo di un colore blu che diventa giallo quando viene aggiunta la soluzione di arresto (H2SO4). L'intensità del colore è direttamente proporzionale alla concentrazione di anticorpi IgG presenti nel campione originale.

La concentrazione di anticorpi IgG nel campione originale viene calcolata mediante una curva di calibrazione.

## 4. REAGENTI, MATERIALI E STRUMENTAZIONE

### 4.1. Reagenti e materiali forniti nel kit

#### 1. Calibratori (5 fiale, 1,2 mL ciascuno)

Tampone fosfato 0,1 M, NaN<sub>3</sub> < 0,1%, BSA 3%

CAL0

REF DCE002/11006-0

CAL1

REF DCE002/11007-0

CAL2

REF DCE002/11008-0

CAL3

REF DCE002/11009-0

CAL4

REF DCE002/11010-0

#### 2. Controlli (2 fiale, 1,2 mL ciascuna, pronte all'uso)

Tampone fosfato 0,1 M, NaN<sub>3</sub> < 0,1%, BSA 3%

Controllo negativo

REF DCE045/11001-0

Controllo positivo

REF DCE045/11002-0

#### 3. Diluente per campioni (1 fiala, 100 mL)

Tampone fosfato 0,1 M NaN<sub>3</sub> < 0,1%, BSA

REF DCE053-0

4. **Coniugato** (1 fiala, 15 mL)

Coniugato IgG anti-umane con perossidasi di rafano (HRP), BSA 0,1%, ProClin >0,0015%

**REF DCE002/11002-0**

5. **Micropiastra rivestita** (1 micropiastra frangibile)

Micropiastra rivestita con beta-2-glicoproteina 1

**REF DCE002/11103-0**

6. **Substrato TMB** (1 fiala, 15 mL)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB (0,26 g/L) (evitare qualsiasi contatto con la pelle), ProClin <0,0015%

**REF DCE004-0**

7. **Soluzione di arresto** (1 fiala, 15 mL)

Acido solforico 0,15 M (evitare qualsiasi contatto con la pelle)

**REF DCE005-0**

8. **Soluzione di lavaggio conc. 10X** (1 fiala, 50 mL)

Tampone fosfato 0,2 M, pH 7,4, ProClin >0,0015%

**REF DCE054-0**

**4.2. Materiali richiesti ma non forniti**

Acqua distillata


**4.3. Materiali e strumentazione ausiliari**

Erogatore automatico

Pipette di precisione

Letto di micropiastre (450 nm, 620-630 nm)

**5. AVVERTENZE**

- Questo kit è destinato all'uso *in vitro* esclusivamente da parte di professionisti. Non per uso interno o esterno in esseri umani o animali.
- Utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale mentre si lavora con i reagenti forniti.
- Seguire le buone prassi di laboratorio (GLP, Good Laboratory Practice) per la manipolazione di emoderivati.
-  Il materiale di origine animale utilizzato nella preparazione del kit è stato ottenuto da animali certificati come sani e la proteina bovina è stata ottenuta da Paesi non infettati dalla BSE, ma tali materiali devono essere trattati come potenzialmente infettivi.
- Alcuni reagenti (coniugato e soluzione di lavaggio) contengono piccole quantità di ProClin™ 300 (>0,0015%, <0,06%) come conservante. Evitare il contatto con pelle o mucose.
- **Classificazione secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]**

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1



Attenzione

Contiene: ProClin 300

**Indicazioni di pericolo:**

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

**Consigli di prudenza:**

P261 - Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi / proteggere gli occhi / proteggere il viso / proteggere l'udito.

P321 - Trattamento specifico (vedere istruzioni

supplementari di pronto soccorso su questa etichetta).

P333+P313 - In caso di irritazione o eruzione della pelle: Consultare un medico.

P362+P364 - Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

- Alcuni reagenti (calibratori, controlli e diluente per campioni) contengono piccole quantità di azoturo di sodio (NaN<sub>3</sub>) <0.1% che può essere tossico se ingerito o assorbito attraverso la pelle o gli occhi; inoltre, può reagire con le tubature di piombo o rame per formare azoturi metallici potenzialmente esplosivi. Se si utilizza un lavandino per rimuovere i reagenti, lavare con abbondante acqua per evitare l'accumulo di azoturi. Il substrato TMB contiene un irritante, che può essere dannoso se inalato, ingerito o assorbito per via cutanea. Per prevenire lesioni, evitare l'inalazione, l'ingestione o il contatto con pelle e occhi.
- La soluzione di arresto consiste in una soluzione diluita di acido solforico. L'acido solforico è velenoso e corrosivo e può essere tossico se ingerito. Per prevenire ustioni chimiche, evitare il contatto con pelle e occhi.
- Evitare l'esposizione del reagente TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a luce solare diretta, metalli o ossidanti.

**6. PRECAUZIONI**

- Attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi di pipettaggio forniti in questo protocollo. I dati sulle prestazioni qui rappresentati sono stati ottenuti utilizzando i reagenti specifici elencati in queste istruzioni per l'uso.
- Tutti i reagenti devono essere conservati refrigerati a 2-8 °C nel contenitore originale. Tutte le eccezioni sono chiaramente indicate.
- Lasciare che tutti i componenti del kit e i campioni raggiungano la temperatura ambiente (22-28 °C) e mescolare bene prima dell'uso.
- Non scambiare i componenti di kit di lotti diversi. La data di scadenza stampata sulle etichette della confezione e delle fiale deve essere rispettata. Non utilizzare alcun componente del kit dopo la data di scadenza.
- Se si utilizzano apparecchiature automatizzate, l'utente ha la responsabilità di assicurarsi che il kit sia stato adeguatamente convalidato per il suo utilizzo/scopo previsto.
- La rimozione incompleta o imprecisa del liquido dai pozzetti potrebbe influenzare la precisione del dosaggio e/o aumentare il background. Per migliorare le prestazioni del kit sui sistemi automatici, si raccomanda di aumentare il numero di lavaggi.
- È importante che il tempo di reazione in ogni pozzetto sia mantenuto costante per ottenere risultati riproducibili. Il pipettaggio dei campioni non deve andare oltre i dieci minuti per evitare deviazioni del dosaggio. Se sono necessari più di 10 minuti, seguire lo stesso ordine di erogazione. Se si utilizza più di una piastra, si raccomanda di ripetere la curva dose-risposta in ogni piastra.
- L'aggiunta della soluzione di substrato TMB avvia una reazione cinetica, che viene terminata dall'aggiunta della soluzione di arresto. Pertanto, il substrato TMB e la soluzione di arresto devono essere aggiunti nella stessa sequenza per eliminare qualsiasi deviazione temporale durante la reazione.

- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori medici analizzando i controlli e/o i sieri in pool.
- La massima precisione è richiesta per la ricostituzione e l'erogazione dei reagenti.
- I campioni microbiologicamente contaminati, altamente lipemici o emolizzati non devono essere utilizzati nel dosaggio.
- I lettori di piastre misurano verticalmente. Non toccare il fondo dei pozzetti.
- **AVVERTENZA: il reagente coniugato è progettato per garantire la massima sensibilità per la dose e può essere contaminato da agenti esterni se non utilizzato correttamente;** pertanto, si raccomanda di utilizzare materiali di consumo monouso (puntali, flaconi, vassoi, ecc.). Per le dosi divise, prelevare l'esatta quantità di coniugato necessaria e non reintrodurre alcun prodotto di scarto nel flacone originale. Inoltre, **per le dosi erogate con l'ausilio di dispositivi automatici e semiautomatici,** prima di utilizzare il coniugato, è consigliabile pulire il sistema per la gestione dei fluidi, assicurandosi che le procedure di lavaggio, deproteinizzazione e decontaminazione siano efficaci per evitare la contaminazione del coniugato; **questa procedura è altamente raccomandata quando il kit viene elaborato con analizzatori non dotati di puntali monouso.**  
A tale scopo, Diametra fornisce un reagente di decontaminazione separato per la pulizia degli aghi.
- **Deben emplearse puntas desechables nuevas al pipetear reactivos de ensayo, incluidas las muestras, los calibradores y los controles, para mitigar el riesgo de contaminación por arrastre. De lo contrario, los resultados podrían no ser válidos.**

## 7. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Conservare il kit a 2-8 °C, al buio.

- Il kit è stabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del kit.
- Una volta aperto, il kit è stabile a 2-8 °C per 6 mesi.
- Una volta aperti, i calibratori sono stabili a 2-8 °C per 6 mesi.
- La soluzione di lavaggio diluita è stabile per 30 giorni a 2-8 °C.

Nota importante: aprire il sacchetto contenente la micropiastra rivestita solo quando è a temperatura ambiente e chiuderlo immediatamente dopo l'uso.

## 8. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il dosaggio deve essere eseguito utilizzando campioni di siero (provette di campionamento standard o provette contenenti gel per la separazione del siero) o di plasma (litio eparina, sodio eparina o potassio EDTA).

Conservazione dei campioni	Durata
2-8 °C	96 ore
Cicli di congelamento/scongelo	3 cicli

## 9. PROCEDURA

### 9.1. Preparazione di calibratori e controlli

Il sistema di dosaggio è calibrato in unità arbitrarie relative. I calibratori sono pronti per l'uso e hanno le seguenti concentrazioni:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
AU/mL	0	10	20	40	160

I controlli sono pronti per l'uso.

### 9.2. Preparazione del coniugato

Il coniugato è pronto per l'uso. Miscelare delicatamente per 5 minuti in un mixer a rotazione.

### 9.3. Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto della fiala "Soluzione di lavaggio conc. 10X" con acqua distillata fino a un volume finale di 500 mL prima dell'uso. Per i volumi più piccoli, rispettare il rapporto di diluizione 1:10.

È possibile osservare la presenza di cristalli all'interno della soluzione di lavaggio concentrata; in tal caso, mescolare a temperatura ambiente fino alla completa dissoluzione dei cristalli. Per una maggiore precisione, diluire l'intero flacone di soluzione di lavaggio concentrata a 500 mL, avendo cura anche di trasferire completamente i cristalli sciacquando il flacone, quindi mescolare fino a quando i cristalli non si dissolvono completamente.

### 9.4. Preparazione dei campioni

La determinazione delle IgG β2-glicoproteina 1 può essere eseguita in campioni di siero (provette di campionamento standard o provette contenenti gel per la separazione del siero) o di plasma (litio eparina, sodio eparina o potassio EDTA).

**Tutti i campioni di siero e plasma devono essere prediluiti con diluente per campioni 1:100;** ad esempio, 10 µL di campione possono essere diluiti con 990 µL di diluente per campioni.

I campioni a digiuno non sono necessari e non sono richieste preparazioni speciali dei campioni.

Prelevare il sangue tramite venipuntura in provette Vacutainer e separare il siero (dopo la formazione del coagulo) o il plasma dalle cellule tramite centrifugazione.

Né la bilirubina né l'emolisi hanno un effetto significativo sulla procedura.

Conservare il campione a -20 °C se la determinazione non viene eseguita lo stesso giorno della raccolta del campione. Prima dell'uso, miscelare delicatamente per 5 minuti con un miscelatore a rotazione.

### 9.5. Procedura

- **Lasciare che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (22-28 °C) per almeno 30 minuti.** Alla fine del dosaggio, conservare immediatamente i reagenti a 2-8 °C: evitare una lunga esposizione a temperatura ambiente.

- Le strisce di micropozzetti rivestiti non utilizzate devono essere rilasciate in modo sicuro nella busta di alluminio contenente l'essiccante e conservate a 2-8 °C.
- Per evitare potenziali contaminazioni microbiche e/o chimiche, i reagenti inutilizzati non devono mai essere trasferiti nelle fiale originali.
- Poiché è necessario eseguire la determinazione in duplicato per migliorare la precisione dei risultati della prova, preparare due pozzetti per ogni punto della curva di calibrazione (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), due per ogni controllo, due per ogni campione, uno per il bianco.

Reagente	Calibratore	Campione/ Controlli	Bianco
Calibratore C <sub>0</sub> -C <sub>4</sub>	100 µL		
Controlli		100 µL	
Campione diluito		100 µL	

Incubare per 60 minuti a temperatura ambiente (22-28 °C).  
Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto, lavare i pozzetti 3 volte con 300 µL di soluzione di lavaggio diluita.

**Nota importante:** durante ogni fase di lavaggio, agitare delicatamente la piastra per 5 secondi e rimuovere la soluzione in eccesso picchiando la piastra capovolta su un tovagliolo di carta assorbente.

**Lavatore automatico:** se si utilizzano apparecchiature automatiche, lavare i pozzetti almeno 5 volte.

Coniugato	100 µL	100 µL	
-----------	--------	--------	--

Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (22-28 °C).  
Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto, lavare i pozzetti 3 volte con 300 µL di soluzione di lavaggio diluita.

**Lavaggio:** seguire le stesse indicazioni del punto precedente.

Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
------------------	--------	--------	--------

Incubare per 15 minuti, al buio, a temperatura ambiente (22-28 °C).

Soluzione di arresto	100 µL	100 µL	100 µL
-------------------------	--------	--------	--------

Agitare delicatamente la micropiastra.  
Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro una lunghezza d'onda di riferimento di 620-630 nm o contro il bianco entro 5 minuti.

## 10. CONTROLLO QUALITÀ

Le buone prassi di laboratorio (GLP) richiedono l'inclusione di campioni per il controllo della qualità in ogni serie di dosaggi al fine di verificare le prestazioni del dosaggio. I controlli devono essere trattati come campioni sconosciuti e i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

I controlli forniti nel kit devono essere testati come se fossero sconosciuti e hanno lo scopo di agevolare la valutazione della validità dei risultati ottenuti in ogni piastra di dosaggio.

La concentrazione media di ciascun livello di controllo è documentata nel rapporto del controllo di qualità incluso in ciascun kit. Tali livelli di concentrazione media sono determinati in base a diversi dosaggi eseguiti in duplicato in più posizioni su ciascuna piastra.

DiaMetra raccomanda agli utenti di conservare le annotazioni grafiche dei valori di controllo generati con ciascun dosaggio, tra cui medie mobili, DS e % CV. Queste informazioni faciliteranno l'analisi delle tendenze dei controlli per quanto riguarda le prestazioni dei lotti di controllo attuali e pregressi rispetto ai dati forniti nel controllo di qualità. Le tendenze aiuteranno a identificare i dosaggi che generano valori di controllo significativamente diversi dal rispettivo intervallo medio.

Quando si interpretano i dati dei controlli, occorre tenere conto del fatto che il prodotto è stato progettato e sviluppato come prodotto per l'utilizzo manuale. L'intervallo riportato sul certificato del controllo di qualità deve essere appropriato per i dosaggi eseguiti manualmente e rispettando rigorosamente la procedura di dosaggio descritta sopra. Gli esperti del controllo di qualità riconoscono che, a causa delle differenze di condizioni e di prassi, si avrà sempre una variabilità nei valori medi e nella precisione delle misurazioni dei controlli eseguite da laboratori diversi<sup>7</sup>.

## 11. CALCOLO DEI RISULTATI

Sono disponibili vari pacchetti software di elaborazione dei dati, che possono essere utilizzati per generare la curva di calibrazione media e per calcolare le concentrazioni medie di campioni e controlli sconosciuti. È necessario un adattamento della curva logistica a 4 parametri (4PL) **che includa il calibratore 0**. È possibile utilizzare un fitting con curva spline continua che includa il calibratore 0. Gli altri algoritmi di adattamento della curva non sono raccomandati.

In alternativa, è possibile preparare una curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica tracciando un grafico con l'assorbanza media sull'asse delle ordinate e la concentrazione dell'analita sull'asse delle ascisse. Nella curva di calibrazione deve essere incluso il calibratore 0. Leggere il valore medio dell'assorbanza di ciascun campione sconosciuto dalla curva.

Affinché i risultati del dosaggio siano considerati validi, i calibratori e i controlli del kit devono rientrare nelle specifiche riportate nel certificato di analisi specifico del lotto.

In caso contrario, i risultati dei test associati non saranno validi e i campioni dovranno essere analizzati nuovamente.

### Conversione delle unità

Per convertire i risultati in unità SI:  
IU/mL = AU/mL × 0,85

## 12. INTERVALLO DI MISURAZIONE

L'intervallo di misurazione del dosaggio (AMR) è 3,30 – 160.0 AU/mL.

Qualsiasi valore inferiore a 3,30 AU/mL deve essere indicato come "< 3,30 AU/mL". Qualsiasi valore superiore a 160.0 AU/mL deve essere indicato come "> 160.0 AU/mL".

## 13. METROLOGIA E TRACCIABILITÀ

I calibratori di questo kit sono tracciabili allo standard internazionale per l'immunoglobulina G anti-β2-glicoproteina 1 (IS-21/266).

## 14. VALORI ATTESI

I seguenti intervalli sono stati determinati utilizzando il test Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG e sono forniti unicamente a scopo informativo. L'intervallo di riferimento al 90% per adulti apparentemente sani è stato calcolato con un metodo non parametrico secondo le linee guida tratte dal documento CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

	n	Mediana (AU/mL)	Intervallo di riferimento (AU/mL)
<b>Adulti</b>	50	<3,30	<3,30

Gli intervalli sopraindicati devono essere considerati solo come linee guida; si raccomanda a ogni laboratorio di stabilire i propri intervalli di valori attesi sulla base della propria popolazione di pazienti.

## 15. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

IgG B2 glicoproteina 1 (AU/mL)	Interpretazione
< 16	Il campione deve essere considerato negativo
16-20	Il campione deve essere classificato equivoco e la ripetizione dei test/prelievi deve essere eseguita secondo le pratiche interne
> 20	Il campione deve essere considerato positivo

La determinazione di un intervallo di valori attesi per una popolazione "normale" di un determinato metodo dipende da diversi fattori, come la specificità e la sensibilità del metodo utilizzato e il tipo di popolazione in esame. Pertanto, ogni laboratorio deve considerare l'intervallo fornito dal produttore come un'indicazione generale e produrre il proprio intervallo di valori attesi sulla base della popolazione autoctona.

I risultati positivi devono essere verificati in relazione all'intero stato clinico del paziente e la decisione per la terapia deve essere presa in base alle condizioni di ciascun paziente. È consigliabile che ogni laboratorio stabilisca i propri intervalli normali e patologici dei valori dell'anticorpo anti-beta-2-glicoproteina 1.

## 16. CARATTERISTICHE DI AZIONE

Sono mostrati i dati più rappresentativi delle prestazioni. I risultati ottenuti nei singoli laboratori possono variare.

### 16.1. Capacità di rilevamento

Il limite del bianco (LoB), il limite di rilevamento (LoD) e il limite della determinazione quantitativa (LoQ) sono stati definiti basandosi sulle linee guida CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation" utilizzando 6 bianchi e 6 campioni a basso livello.

Sensibilità	Concentrazione
Limite del bianco (LoB)	1,17 AU/mL
Limite di rilevamento (LoD)	2,26 AU/mL
Limite della determinazione quantitativa (LoQ)	3,30 AU/mL

### 16.2. Esattezza

L'esattezza è stata dimostrata attraverso un test di recupero per il dosaggio Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG con lo Standard internazionale per l'immunoglobulina G anti-β2 Glicoproteina 1 (IS 21/266).

### 16.3. Sensibilità e specificità diagnostica

La sensibilità e la specificità sono state determinate basandosi sulle linee guida CLSI EP-24 "Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves" utilizzando 50 campioni negativi e 73 campioni positivi testati con due lotti di reagenti.

		DKO110		Totale
		Positivo	Negativo	
Stato reale	Positivo	67	6	73
	Negativo	0	50	50
Totale		67	56	123

Sensibilità diagnostica: 92%

Specificità diagnostica: 100%

### 16.4. Precisione

La precisione del test Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG è stata determinata eseguendo un complesso studio di precisione.

**Ripetibilità:** un totale di 6 campioni è stato analizzato in 5 repliche, una volta al giorno per 5 giorni da 3 operatori. I dati di un lotto rappresentativo sono mostrati di seguito:

Campione	n	Conc. media (AU/mL)	Intra-test (ripetibilità)	
			DS	% CV
1	75	8,19	0,51	6,3%
2	75	19,96	0,78	3,9%
3	75	40,17	2,14	5,3%
4	75	71,51	3,34	4,7%
5	75	103,36	2,95	2,9%
6	75	146,46	9,85	6,7%

**Riproducibilità:** un totale di 6 campioni è stato analizzato in 5 repliche, una volta al giorno per 5 giorni da 3 operatori. I risultati dei dati combinati di due lotti sono mostrati di seguito:

Campione	n	Conc. media (AU/mL)	All'interno del laboratorio (riproducibilità)	
			DS	% CV
1	150	8,38	0,74	8,8%
2	150	19,97	1,01	5,1%
3	150	39,06	3,75	9,6%
4	150	69,69	4,86	7,0%
5	150	99,72	7,32	7,3%
6	150	143,46	10,79	7,5%

### 16.5. Linearità

La linearità è stata valutata secondo le linee guida basate su CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Per quanto riguarda la concentrazione di IgG anti-beta-2-glicoproteina 1 determinata mediante il test Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG, la procedura di misurazione evidenzia un comportamento lineare per l'intervallo compreso tra 3,30 e 160,0 AU/mL entro la deviazione ammissibile di linearità (ADL) di  $\pm 15\%$ .

### 16.6. Specificità analitica

Le seguenti sostanze non interferiscono generando una distorsione  $> \pm 15\%$  nel dosaggio Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG quando le concentrazioni sono inferiori alla soglia dichiarata riportata nella tabella seguente.

Reagente potenzialmente interferente	Concentrazione di soglia
Bilirubina, coniugata	15 mg/dL
Bilirubina, non coniugata	15 mg/dL
Emoglobina	200 mg/dL
Proteine totali	10 g/dL
Trigliceridi	500 mg/dL

### 16.7. Studio su siero-plasma

È stato condotto uno studio di confronto tra matrici del test Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG per valutare la differenza dovuta ai tipi di provette (provette per la separazione del siero (SST), per plasma in litio eparina, per plasma in sodio eparina e per plasma in K2 EDTA) con i campioni di controllo (siero tappo rosso, senza additivo) secondo le linee guida CLSI EP35-Ed1. Sono stati utilizzati in totale 20 campioni (16 nativi, 4 additivati). L'analisi di regressione di Passing-Bablok è stata effettuata sui dati comparativi:

Tipo di campione	Pendenza [IC 95%]	Intercetta (AU/mL) [IC 95%]	Coefficiente di correlazione (r)
SST	0,96 [0,93 – 1,00]	1,04 [-0,67 – 2,75]	1,00
Litio eparina	0,94 [0,88 – 1,00]	1,43 [-1,31 – 4,17]	0,99
Sodio eparina	0,95 [0,91 – 0,99]	0,85 [-1,00 – 2,70]	1,00
EDTA	0,95 [0,91 – 0,98]	1,09 [-0,41 – 0,98]	1,00

### 17. LIMITAZIONI D'USO

- Come nel caso di qualsiasi procedura diagnostica, i risultati devono essere interpretati unitamente ai dati clinici del paziente e alle altre informazioni a disposizione del medico.
- Non sono state stabilite le caratteristiche di azione di questo dosaggio nella popolazione pediatrica.
- Gli anticorpi eterofili nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline dei reagenti, interferendo con gli immunodosaggi *in vitro*<sup>8</sup>. I pazienti regolarmente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero animale possono essere soggetti a questa interferenza, quindi si potrebbero osservare valori anomali.

### 18. GESTIONE DEI RIFIUTI

I reagenti devono essere smaltiti in conformità alle normative locali.

Tutti i materiali che sono entrati in contatto con i campioni e i reagenti devono essere smaltiti in conformità con le normative nazionali, regionali e locali.

### 19. BIBLIOGRAFIA

1. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006 Feb;4(2):295-306.
2. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep. 2011 Feb;13(1):70-6.

3. Otomo K, Atsumi T, Amengual O, Fujieda Y, Kato M, Oku K, Horita T, Yasuda S, Koike T. Efficacy of the antiphospholipid score for the diagnosis of antiphospholipid syndrome and its predictive value for thrombotic events. *Arthritis Rheum.* 2012 Feb;64(2):504-12.
4. Roggenbuck D, Somma V, Schierack P, Borghi MO, Meroni PL. Autoantibody profiling in APS. *Lupus.* 2014 Oct;23(12):1262-4.
5. Linnemann B. Antiphospholipid syndrome - an update. *Vasa.* 2018 Oct;47(6):451-464.
6. Banzato A, Pengo V. Clinical relevance of  $\beta$  - glycoprotein-I plasma levels in antiphospholipid syndrome (APS). *Curr Rheumatol Rep.* 2014 Jun;16(6):424.
7. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
8. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

## 20. IDENTIFICATORE DELLE REVISIONI

Le aggiunte o le modifiche alle istruzioni per l'uso sono indicate dall'evidenziazione in grigio.

## 21. RECLAMI SUI PRODOTTI E SUPPORTO TECNICO

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e nei Paesi con un regime normativo simile (Regolamento 2017/746/UE relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*); se, durante l'uso di questo dispositivo o come risultato del suo utilizzo, si è verificato un incidente grave, segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità normativa nazionale. Il produttore può essere contattato tramite il relativo servizio clienti o il team di supporto tecnico. I dettagli di contatto sono disponibili di seguito e sul sito Web dell'azienda: [www.diametra.com](http://www.diametra.com).

Ed. 01/2024

DCM110-6



DCM110-6  
Ed. 01/2024

# Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG

for routine analysis

Quantitative determination of IgG class antibodies against  $\beta$ 2 Glycoprotein 1 in human serum or plasma

IVD

LOT

See external label

2°C 8°C

$\Sigma$  = 96 tests

REF DKO110

## 1. INTENDED PURPOSE

**For *In Vitro* Diagnostic Use**  
**For Laboratory Professional Use**

Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG is a manual *in vitro* diagnostic device intended for the quantitative determination of IgG class antibodies directed against  $\beta$ 2 Glycoprotein 1 in human serum or plasma from an adult population.

## 2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Beta 2 Glycoprotein 1 (B2GP1) is a 326 amino acid phospholipid binding plasma glycoprotein synthesised by hepatocytes, endothelial and trophoblast cells, and is arranged in 5 short consensus domains (I – V).

Autoantibodies directed against B2GP1 (both IgG and IgM classes) are also referred to as antiphospholipid antibodies (aPLs). B2GP1 autoantibodies are part of a broader class of aPLs which also includes anti- Cardiolipin autoantibodies and Lupus Anticoagulant.

Domain 1 of B2GP1 is considered to be the most clinically relevant autoantigenic part and is specifically correlated to the autoimmune disease antiphospholipid syndrome (APS) (7 – 9)<sup>1-3</sup>. Furthermore, certain studies suggest that among aPLs, B2GP1 antibodies are the most clinically relevant markers in the diagnosis of APS (2,6,8)<sup>2,4-5</sup>.

APS is an autoimmune disease characterised by recurrent vascular thrombosis (thrombotic APS) as well as by pregnancy-related complications (obstetrical APS) (3)<sup>6</sup>, in combination with the presence and persistence of aPLs in patient sera<sup>1</sup>. APS can occur alone (primary APS) or in association with other systemic autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (secondary APS).

## 3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG is a two-step sandwich enzyme immunometric assay (ELISA) where patient samples, calibrators or controls are incubated on microtitre plates coated with  $\beta$ 2 Glycoprotein 1. During the incubation, antibodies present in the test sample bind to the immobilised antigen. After the incubation, the bound/free separation is performed by a simple solid phase washing.

A subsequent incubation occurs with anti-human IgG conjugated with horseradish peroxidase (HRP), which binds to the immobilised antibodies. A further wash step is performed to remove excess conjugate. Then, a chromogenic substrate solution containing TMB is dispensed into the wells which reacts with the conjugated HRP and a blue colour develops that changes into yellow when the Stop Solution (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) is added. The level of colour is directly proportional to the concentration of IgG antibodies present in the original sample.

The concentration of IgG antibodies present in the original sample is calculated through a calibration curve.

## 4. REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

### 4.1. Reagents and materials supplied in the kit

1. Calibrators (5 vials, 1.2 mL each)

Phosphate buffer 0.1M, NaN<sub>3</sub> <0.1%, BSA 3%

CAL0 **REF DCE002/11006-0**

CAL1 **REF DCE002/11007-0**

CAL2 **REF DCE002/11008-0**

CAL3 **REF DCE002/11009-0**

CAL4 **REF DCE002/11010-0**

2. Controls (2 vials, 1.2 mL each, ready to use)

Phosphate buffer 0.1M, NaN<sub>3</sub> <0.1%, BSA 3%

Negative Control **REF DCE045/11001-0**

Positive Control **REF DCE045/11002-0**

3. Sample diluent (1 vial, 100 mL)

Phosphate buffer 0.1 M NaN<sub>3</sub> <0.1%, BSA

**REF DCE053-0**

4. Conjugate (1 vial, 15 mL)

Anti-human IgG conjugate with peroxidase, BSA 0.1%,

ProClin >0,0015% **REF DCE002/11002-0**

5. Coated Microplate (1 breakable microplate)

Microplate coated with Beta 2-Glycoprotein 1

**REF DCE002/11103-0**

6. TMB Substrate (1 vial, 15 mL)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> -TMB (0.,26 g/L) (avoid any skin contact), ProClin

<0.0015% **REF DCE004-0**

7. Stop Solution (1 vial, 15 mL)  
Sulphuric acid 0.15M (*avoid any skin contact*)  
**REF DCE005-0**

8. 10X Conc. Wash Solution (1 vial, 50 mL)  
Phosphate buffer 0.2M pH 7.4, ProClin >0.0015%  
**REF DCE054-0**


#### 4.2. Materials required but not provided

Distilled water

#### 4.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser  
Precision Pipetting Devices  
Microplate reader (450 nm, 620-630 nm)

#### 5. WARNINGS

- This kit is intended for *in vitro* use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
-  Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Some reagents (conjugate and wash solution) contain small amounts of ProClin™ 300 (>0.0015%, <0.06%) as preservative. Avoid contact with skin or mucosa.
- Classification according to Regulation (EC) No. 1272/2008 [CLP]

Skin sensitivity, Category 1



Warning

Contains: ProClin 300

#### Hazard statements:

H317 - May cause an allergic skin reaction.

#### Precautionary statements:

P261 - Avoid breathing dust / fume / gas / mist / vapours / spray.

P280 - Wear protective gloves/ protective clothing / eye protection / face protection / hearing protection.

P321 - Specific treatment (see supplemental first aid instruction on this label).

P333+P313 - If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

P362+P364 - Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

- Some reagents (calibrators, controls and sample diluent) contain small amounts of Sodium Azide (NaN<sub>3</sub>) <0.1% which may be toxic if ingested or absorbed through the skin or eyes; moreover, it may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. If you use a sink to remove the reagents, wash through large with amounts of water to prevent azide build-up.
- The TMB Substrate contains an irritant, which harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To

prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.

- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous, corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to direct sunlight, metals or oxidants.

#### 6. PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction For Use.
- All reagents should be stored refrigerated at 2-8°C in their original container. Any exceptions are clearly indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22-28°C) and mix well prior to use.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vials labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.
- If you use automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately validated for its intended use/purpose.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of the reagents.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic, icteric or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
- **WARNING: the conjugate reagent is designed to ensure maximum dose sensitivity and may be contaminated by external agents if not used properly;** therefore, it is recommended to use disposable consumables (tips, bottles, trays, etc.). For divided doses, take the exact amount of conjugate needed and do not re-introduce any waste product into the original bottle. In addition, **for doses dispensed with the aid of automatic and semi-automatic devices,** before using the conjugate, it is advisable to clean the fluid handling system, ensuring that the procedures of washing, deproteinisation and decontamination are effective in avoiding contamination

of the conjugate; this procedure is highly recommended when the kit is processed using analysers which are not equipped with disposable tips.

For this purpose, Diametra supplies a separate decontamination reagent for cleaning needles.

- Fresh disposable tips must be used when pipetting assay reagents including samples, calibrators and controls to mitigate the risk of carryover contamination. Failure to do so may lead to invalid results.

## 7. REAGENT STORAGE AND STABILITY

Store the kit at 2 – 8°C in the dark.

- The kit is stable at 2 – 8°C until the expiry date stated on the external kit label.
- Once opened, the kit is stable at 2 – 8°C for 6 months.
- Once opened, the calibrators are stable at 2 – 8°C for 6 months.
- The diluted wash solution is stable for 30 days at 2-8°C.

Important note: open the bag containing the Coated Microplate only when it is at room temperature and close it immediately after use.

## 8. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

The assay should be performed using serum (standard sampling tubes or tubes containing serum separating gel) or plasma (lithium heparin, sodium heparin, or potassium EDTA) samples.

Sample Storage	Duration
2 – 8 °C	96 hours
Freeze/thaw cycles	3 cycles

## 9. PROCEDURE

### 9.1. Preparation of Calibrators and Controls

The assay system is calibrated in relative arbitrary units. The Calibrators are ready to use and have the following concentrations:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
AU/mL	0	10	20	40	160

The controls are ready to use.

### 9.2. Preparation of the Conjugate

The conjugate is ready to use. Mix gently, for 5 minutes, on a roller mixer.

### 9.3. Preparation of the Wash Solution

Dilute the content of the vial "10X Conc. Wash Solution" with distilled water to a final volume of 500 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:10 dilution ratio.

It is possible to observe the presence of crystals within the concentrated wash solution; in this case mix at room temperature until the complete dissolution of crystals. For greater accuracy, dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500 mL, taking care also to transfer crystals completely by rinsing of the bottle, then mix until crystals are completely dissolved.

### 9.4. Preparation of Samples

The determination of β2 Glycoprotein 1 IgG can be performed in serum (standard sampling tubes or tubes containing serum separating gel) or plasma (lithium heparin, sodium heparin, or potassium EDTA) samples.

**All serum and plasma samples must be pre-diluted with sample diluent 1:100;** for example, 10 µL of sample may be diluted with 990 µL of sample diluent.

Fasting samples are not necessary and no special sample preparations are required.

Collect blood by venepuncture into vacutainers and separate serum (after clot formation) or plasma from the cells by centrifugation.

Neither bilirubin nor haemolysis have significant effect on the procedure.

Store the sample at -20°C if the determination is not performed on the same day of the sample collection. Before using, mix gently, for 5 minutes, with a roller mixer.

### 9.5. Procedure

- **Allow all reagents to reach room temperature (22-28°C) for at least 30 minutes.** At the end of the assay, immediately store the reagents at 2-8°C: avoiding long exposure to room temperature.
- Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2-8°C.
- To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
- As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the calibration curve (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), two for each Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Calibrator	Sample/ Controls	Blank
Calibrator C <sub>0</sub> -C <sub>4</sub>	100 µL		
Controls		100 µL	
Diluted Sample		100 µL	

Incubate for 60 minutes at room temperature (22-28°C). Remove the contents from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution.

**Important note:** during each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel.

**Automatic washer:** if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.

Conjugate	100 µL	100 µL	
-----------	--------	--------	--

Incubate for 30 minutes at room temperature (22-28°C). Remove the contents from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution.

**Washing:** follow the same indications of the previous point.

TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Incubate for 15 minutes in the dark at room temperature (22 – 28°C).

Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Shake the microplate gently. Read the absorbance (E) at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against Blank within 5 minutes.

### 10. QUALITY CONTROL

Good Laboratory Practice (GLP) requires the use of quality control specimens in each series of assays in order to check the performance of the assay. Controls should be treated as unknown samples, and the results analysed with appropriate statistical methods.

The kit controls provided in the kit should be tested as unknowns and are intended to assist in assessing the validity of results obtained with each assay plate.

The mean concentration of each control level is documented in the QC report included with each kit. These mean concentration levels are determined over several assays which are run in duplicate in multiple locations across each plate.

DiaMetra recommends the users to maintain graphic records of the control values generated with each assay run, including the running means, SDs and %CVs. This information will facilitate the controls trending analysis relating to the performance of current and historical control lots relative to the supplied Quality Control data. The trending will assist in the identification of assays which give control values significantly different from their average range.

When interpreting control data, users should note that this product was designed and developed as a manual product. The range stated on the QC certificate should be appropriate for assays that are performed manually and with strict adherence to the Assay Procedure described above. It is recognised by Quality Control professionals, that as a result of differences in conditions and practices, there will always be variability in the mean values and precision of control measurements between different laboratories<sup>7</sup>.

### 11. CALCULATION OF RESULTS

A variety of data reduction software packages are available, which may be employed to generate the mean calibration curve and to calculate the mean concentrations of unknown samples and controls. A 4-parameter logistic (4PL) curve fit, **including Calibrator 0 is required.** A smoothed spline fit including Calibrator 0 can be used. Other curve fitting algorithms are not recommended.

Alternatively, a calibration curve may be prepared on semi-log graph paper by plotting mean absorbance on the Y-axis against concentration of analyte on the X-axis. Calibrator 0 should be included in the calibration curve. Read the mean absorbance value of each unknown sample off the curve.

In order for the assay results to be considered valid the kit calibrators and control must fall within the specifications detailed in the lot specific certificate of analysis.

If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and samples must be retested.

### Conversion of units

To convert results to standard units:  
 $IU/mL = AU/mL \times 0.85$

### 12. MEASURING RANGE

The assay measuring range (AMR) is 3.30 – 160.0 AU/mL. Any value that reads below 3.30 AU/mL should be reported as “< 3.30 AU/mL”. Any value that reads above 160.0AU/mL (should be reported as “> 160.0AU/mL”.

### 13. METROLOGY AND TRACEABILITY

The calibrators of this kit are traceable to the International Standard for Anti-β2 Glycoprotein I Immunoglobulin G (IS 21/266).

### 14. EXPECTED VALUES

The following ranges were determined using the Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG and are provided for information only. The 90% reference interval for apparently healthy adults were calculated by a non-parametric method following guidance from CLSI C28-A3 “Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory”.

	n	Median (AU/mL)	Reference Interval (AU/mL)
<b>Adults</b>	50	<3.30	<3.30

The above ranges should be considered as guidelines only; it is recommended that each laboratory establish its own expected range based upon its own patient population.

### 15. INTERPRETATION OF RESULTS

B2 Glycoprotein 1 IgG (AU/mL)	Interpretation
< 16	The sample should be considered negative
16 – 20	The sample should be graded equivocal and repeat testing / sampling should be performed according to internal practices
> 20	The sample should be considered positive

Determination of a range of expected values for a “normal” population of a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation. Therefore, each laboratory should consider the range given by the Manufacturer as a general indication and produce their own range of expected values based on the indigenous population.

Positive results should be verified concerning the entire clinical status of the patient, with the decision for therapy being taken on an individual basis. It is recommended that each laboratory establishes its own normal and pathological ranges of Anti-beta 2 glycoprotein 1 antibody values.

## 16. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

### 16.1. Detection Capability

The limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ) were determined with guidance from CLSI EP17-A, “Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation” using 6 blanks and 6 low level samples.

Sensitivity	Concentration
Limit of Blank (LoB)	1.17 AU/mL
Limit of Detection (LoD)	2.26 AU/mL
Limit of Quantitation (LoQ)	3.30 AU/mL

### 16.2. Trueness

Trueness has been demonstrated through a recovery test for the Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG assay with the International Standard for Anti-β2 Glycoprotein 1 Immunoglobulin G (IS 21/266).

### 16.3. Diagnostic sensitivity and specificity

The sensitivity and specificity were determined with guidance from CLSI EP-24 “Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves” using 50 negative and 73 positive samples run on two reagent lots.

		DKO110		Total
		Positive	Negative	
True State	Positive	67	6	73
	Negative	0	50	50
Total		67	56	123

Diagnostic sensitivity: 92%

Diagnostic specificity: 100%

### 16.4. Precision

Precision of the Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG was determined by performing a complex precision study.

**Repeatability:** A total of 6 samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators.

Data from one representative lot is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (AU/mL)	Within run (Repeatability)	
			SD	CV%
1	75	8.19	0.51	6.3%
2	75	19.96	0.78	3.9%
3	75	40.17	2.14	5.3%
4	75	71.51	3.34	4.7%
5	75	103.36	2.95	2.9%
6	75	146.46	9.85	6.7%

**Reproducibility** A total of 6 samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators Results for the combined data from two lots is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (AU/mL)	Within Laboratory (Reproducibility)	
			SD	CV%
1	150	8.38	0.74	8.8%
2	150	19.97	1.01	5.1%
3	150	39.06	3.75	9.6%
4	150	69.69	4.86	7.0%
5	150	99.72	7.32	7.3%
6	150	143.46	10.79	7.5%

### 16.5. Linearity

Linearity was evaluated based on CLSI EP-06, “Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures”. For beta 2 Glycoprotein 1 IgG concentration by Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG, the measurement procedure shows linearity for the interval from 3.30 to 160.0AU/mL within the allowable deviation of linearity (ADL) of ±15 %.

### 16.6. Analytical specificity

The following substances do not interfere with a bias of > ±15% in the Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG assay when the concentrations are below the stated threshold presented in the following table.

Potentially Interfering Reagent	Threshold Concentration
Bilirubin, conjugated	15 mg/dL
Bilirubin, unconjugated	15 mg/dL
Haemoglobin	200 mg/dL
Total Protein	10 g/dL
Triglyceride	500 mg/dL

### 16.7. Serum-plasma study

The Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG matrix comparison study was performed to evaluate the difference across tube types (serum separator tubes (SST), lithium heparin plasma, sodium heparin plasma and K2 EDTA plasma) versus the control samples (red top serum, without additive) following CLSI EP35-Ed1 guidelines. A total of 20 samples (16 native, 4 spiked) were evaluated. Passing-Bablok regression analysis was performed on the comparative data:

Sample type	Slope [95% CI]	Intercept (AU/mL) [95% CI]	Correlation coefficient (r)
SST	0.96 [0.93 – 1.00]	1.04 [-0.67 – 2.75]	1.00
Lithium Heparin	0.94 [0.88 – 1.00]	1.43 [-1.31 – 4.17]	0.99
Sodium Heparin	0.95 [0.91 – 0.99]	0.85 [-1.00 – 2.70]	1.00
EDTA	0.95 [0.91 – 0.98]	1.09 [-0.41 – 0.98]	1.00

### 17. LIMITATIONS OF USE

- As in the case of any diagnostic procedure, results must be interpreted in conjunction with the patient's clinical presentation and other information available to the physician.
- The performance characteristics of this assay have not been established in a paediatric population.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with *in vitro* immunoassays<sup>8</sup>. Patients routinely exposed to animals or to animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed.

### 18. WASTE MANAGEMENT

Reagents must be disposed of in accordance with local regulations.

All materials that have come into contact with samples and reagents must be disposed of in accordance with country, state and local regulations.

### 19. BIBLIOGRAPHY

1. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid

syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006 Feb;4(2):295-306.

2. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. *Curr Rheumatol Rep.* 2011 Feb;13(1):70-6.
3. Otomo K, Atsumi T, Amengual O, Fujieda Y, Kato M, Oku K, Horita T, Yasuda S, Koike T. Efficacy of the antiphospholipid score for the diagnosis of antiphospholipid syndrome and its predictive value for thrombotic events. *Arthritis Rheum.* 2012 Feb;64(2):504-12.
4. Roggenbuck D, Somma V, Schierack P, Borghi MO, Meroni PL. Autoantibody profiling in APS. *Lupus.* 2014 Oct;23(12):1262-4.
5. Linnemann B. Antiphospholipid syndrome - an update. *Vasa.* 2018 Oct;47(6):451-464.
6. Banzato A, Pengo V. Clinical relevance of  $\beta$  - glycoprotein-I plasma levels in antiphospholipid syndrome (APS). *Curr Rheumatol Rep.* 2014 Jun;16(6):424.
7. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
8. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

### 20. REVISION IDENTIFIER

Additions or changes to the IFU are indicated by grey highlighting.

### 21. PRODUCT COMPLAINTS AND TECHNICAL SUPPORT

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with similar regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on IVD Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national regulatory authority.

The manufacturer can be contacted through their customer service or technical support team. The contact details can be found below and on the company website: [www.diametra.com](http://www.diametra.com).

Ed. 01/2024

DCM110-6



DCM110-6  
Ed. 01/2024

# Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG

para el análisis de rutina

Determinación cuantitativa de anticuerpos de clase IgG contra  $\beta$ 2 glicoproteína 1 en suero o plasma humano

IVD

LOT

Ver etiqueta  
externa

2°C  8°C



$\Sigma = 96$  pruebas

REF DKO110

## 1. FINALIDAD PREVISTA

Para uso en diagnóstico *in vitro*

Para uso profesional de laboratorio

Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG es un dispositivo manual de diagnóstico *in vitro* destinado a la determinación cuantitativa de anticuerpos de clase IgG dirigidos contra la  $\beta$ 2 glicoproteína 1 en suero o plasma humano de una población adulta.

## 2. IMPORTANCIA CLÍNICA

La beta 2 glicoproteína 1 (B2GP1) es una glicoproteína plasmática de 326 aminoácidos que se une a los fosfolípidos y que es sintetizada por los hepatocitos, las células endoteliales y los trofoblastos, y está organizada en 5 dominios cortos de consenso (I-V).

Los autoanticuerpos dirigidos contra la B2GP1 (tanto de la clase IgG como de la clase IgM) también se denominan anticuerpos antifosfolípidos (aPL). Los autoanticuerpos B2GP1 forman parte de una clase más amplia de aPL que también incluye los autoanticuerpos anticardiolipina y el anticoagulante lúpico.

El dominio 1 de B2GP1 se considera la parte autoantigénica más relevante desde el punto de vista clínico y se correlaciona específicamente con la enfermedad autoinmune síndrome antifosfolípido (APS) (7-9)<sup>1-3</sup>. Además, algunos estudios sugieren que, entre los aPL, los anticuerpos B2GP1 son los marcadores más relevantes desde el punto de vista clínico en el diagnóstico del APS (2,6,8)<sup>2,4-5</sup>.

El APS es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la trombosis vascular recurrente (APS trombótico), así como por las complicaciones relacionadas con el embarazo (APS obstétrico) (3)<sup>6</sup>, en combinación con la presencia y la persistencia de aPL en el suero de los pacientes<sup>1</sup>. El APS puede aparecer solo (APS primario) o asociado a otras enfermedades autoinmunes sistémicas como el lupus eritematoso sistémico (APS secundario).

## 3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ensayo Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG es un ensayo enzimático inmunométrico (ELISA) de dos pasos tipo sándwich en el que las muestras de los pacientes, los calibradores o los controles se incuban en placas de microtitulación recubiertas con  $\beta$ 2 glicoproteína 1. Durante la incubación, los anticuerpos presentes en la muestra de ensayo se unen a los antígenos inmovilizados. Tras la incubación, la separación ligada/libre se realiza mediante un simple lavado en fase sólida.

A continuación, se realiza una incubación con IgG antihumano conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP), que se une a los anticuerpos inmovilizados. Se realiza otro paso de lavado para eliminar el exceso de conjugado. A continuación, se dispensa en los pocillos una solución de sustrato cromogénico que contiene TMB, que reacciona con el HRP conjugado y se desarrolla un color azul que cambia a amarillo cuando se añade la solución de detención (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). El nivel de color es directamente proporcional a la concentración de anticuerpos de IgG presentes en la muestra original.

La concentración de anticuerpos IgG presentes en la muestra se calcula mediante una curva de calibración.

## 4. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

### 4.1. Reactivos y materiales incluidos en el kit

#### 1. Calibradores (5 viales de 1,2 mL cada uno)

Tampón fosfato 0,1 M, NaN<sub>3</sub> <0,1 %, BSA 3%

CAL0

REF DCE002/11006-0

CAL1

REF DCE002/11007-0

CAL2

REF DCE002/11008-0

CAL3

REF DCE002/11009-0

CAL4

REF DCE002/11010-0

#### 2. Controles (2 viales de 1,2 mL cada uno, listos para usar)

Tampón fosfato 0,1 M, NaN<sub>3</sub> <0,1 %, BSA 3%

Control negativo

REF DCE045/11001-0

Control positivo

REF DCE045/11002-0

#### 3. Diluyente de muestras (1 vial, 100 mL)

Tampón fosfato 0,1 M, NaN<sub>3</sub> <0,1 %, BSA

REF DCE053-0

4. Conjugado (1 vial, 15 mL)  
IgG antihumano conjugado con peroxidasa (HRP), BSA  
0,1 %, ProClin >0,0015 % **REF DCE002/11002-0**

5. Microplaca recubierta (1 microplaca que se puede romper)  
Microplaca recubierta con beta 2-glicoproteína 1  
**REF DCE002/11103-0**

6. Sustrato de TMB (1 vial, 15 mL)  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB (0,26 g/L) (evitar el contacto con la piel),  
ProClin <0,0015% **REF DCE004-0**

7. Solución de detención (1 vial, 15 mL)  
Ácido sulfúrico 0,15 M (evitar el contacto con la piel)  
**REF DCE005-0**

8. Conc. 10X Solución de lavado (1 vial, 50 mL)  
Tampón fosfato 0,2 M pH 7,4, ProClin >0,0015 %  
**REF DCE054-0**

#### 4.2. Materiales necesarios pero no suministrados

Agua destilada


#### 4.3. Materiales auxiliares e instrumentación

Dispensador automático

Dispositivos de pipetas de precisión

Lector de microplacas (450 nm, 620-630 nm)

#### 5. ADVERTENCIAS

- Este kit está destinado al uso *in vitro* realizado exclusivamente por profesionales. No es para uso interno o externo en personas ni animales.
- Utilice el equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
- Siga las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) para manipular productos sanguíneos.
-  El material de origen animal utilizado en la preparación del kit se ha obtenido de animales certificados como sanos y la proteína bovina se ha obtenido de países donde no hay infección de EEB, pero estos materiales deben manejarse como potencialmente infecciosos.
- Algunos reactivos (conjugado y solución de lavado) contienen pequeñas cantidades de ProClin™ 300 (>0,0015%, <0,06%) como conservante. Evite el contacto con la piel o las mucosas.
- Clasificación según Reglamento (UE) n° 1272/2008 [CLP]  
Sensibilización cutánea, categoría 1



Atención

Contiene: ProClin 300

#### Indicaciones de peligro:

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

#### Consejos de prudencia:

P261 - Evitar respirar el polvo / el humo / el gas / la niebla / los vapores / el aerosol.

P280 - Llevar guantes / ropa de protección / equipo de protección para los ojos / la cara / los oídos.

P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver instrucciones de primeros auxilios en esta etiqueta).

P333+P313 - En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P362+P364 - Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

- Algunos reactivos (calibradores, controles y diluyente de muestras) contienen pequeñas cantidades de azida sódica (NaN<sub>3</sub>) <0.1% que puede ser tóxica si se ingiere o se absorbe a través de la piel o los ojos; además, puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre para formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si elimina los reactivos en un fregadero, lávelos con gran cantidad de agua para evitar la acumulación de azida.
- El sustrato de TMB contiene un irritante que es perjudicial si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para evitar lesiones, evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y los ojos.
- La solución de detención consiste en una solución diluida de ácido sulfúrico. El ácido sulfúrico es venenoso, corrosivo y puede ser tóxico si se ingiere. Para evitar quemaduras químicas, evite el contacto con la piel y los ojos.
- Evite la exposición del reactivo TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a la luz solar directa, a metales o a oxidantes.

#### 6. PRECAUCIONES

- Siga estrictamente la secuencia de pasos de pipeteado que se indica en este protocolo. Los datos de rendimiento representados en este documento se obtuvieron utilizando los reactivos específicos indicados en estas instrucciones de uso.
- Todos los reactivos deben conservarse refrigerados entre 2 y 8 °C en su envase original. Las excepciones se indican claramente.
- Deje que todos los componentes del kit y las muestras alcancen la temperatura ambiente (22-28 °C) y mezcle bien antes de usarlos.
- No intercambie componentes del kit procedentes de diferentes lotes. Debe respetarse la fecha de caducidad impresa en las etiquetas de la caja y de los viales. No utilice ningún componente del kit después de su fecha de caducidad.
- Si el usuario utiliza un equipo automatizado, tiene la responsabilidad de asegurarse de que el kit ha sido debidamente validado para su uso previsto.
- La eliminación incompleta o imprecisa del líquido de los pocillos podría alterar la precisión del ensayo o aumentar el fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en sistemas automáticos se recomienda aumentar el número de lavados.
- Es importante que el tiempo de reacción en cada pocillo se mantenga constante para obtener resultados reproducibles. El pipeteo de las muestras no debe prolongarse más de diez minutos para evitar errores en el ensayo. Si se necesitan más de 10 minutos, siga el mismo orden de dispensación. Si se utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta en cada placa.

- La adición de la solución de sustrato de TMB inicia una reacción cinética, que finaliza al añadir la solución de detención. Por lo tanto, el sustrato de TMB y la solución de detención deben añadirse en la misma secuencia para eliminar las posibles desviaciones temporales durante la reacción.
- Respete las directrices para realizar el control de calidad en los laboratorios médicos mediante el ensayo de controles o sueros combinados.
- Se requiere la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No se deben usar en el ensayo muestras contaminadas microbiológicamente, muy lipémicas, ictéricas o hemolizadas.
- Los lectores de placas miden en vertical. No toque el fondo de los pocillos.
- **ADVERTENCIA: el reactivo conjugado está diseñado para garantizar la máxima sensibilidad de la dosis y puede contaminarse con agentes externos si no se utiliza correctamente;** por lo tanto, se recomienda utilizar consumibles desechables (puntas, frascos, bandejas, etc.). Para dosis divididas, tome la cantidad exacta de conjugado necesaria y no vuelva a introducir ningún producto de desecho en el frasco original. Además, **para las dosis dispensadas mediante dispositivos automáticos y semiautomáticos,** antes de utilizar el conjugado, es aconsejable limpiar el sistema de manipulación de fluidos, asegurándose de que los procedimientos de lavado, desproteinización y descontaminación sean eficaces para evitar la contaminación del conjugado; **este procedimiento es muy recomendable cuando el kit se procesa con analizadores que no están equipados con puntas desechables.** Para ello, Diametra proporciona un reactivo de descontaminación independiente para la limpieza de las agujas.
- Deben emplearse puntas desechables nuevas al pipetear reactivos de ensayo, incluidas las muestras, los calibradores y los controles, para mitigar el riesgo de contaminación por arrastre. De lo contrario, los resultados podrían no ser válidos.

## 7. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Almacene el kit a 2-8 °C en un lugar oscuro.

- El kit es estable a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta externa.
- Una vez abierto, el kit es estable a 2-8 °C durante 6 meses.
- Una vez abierto, los calibradores son estables a 2-8 °C durante 6 meses.
- La solución de lavado diluida es estable durante 30 días a 2-8 °C.

Nota importante: abra la bolsa que contiene la microplaca recubierta solo cuando esté a temperatura ambiente y ciérrela inmediatamente después de su uso.

## 8. RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El ensayo debe llevarse a cabo usando muestras de suero (tubos de muestras estándar o tubos que contienen gel para la separación de suero) o plasma (heparina de litio, heparina sódica o EDTA de potasio).

Almacenamiento de muestras	Duración
2-8 °C	96 horas
Ciclos de congelación/descongelación	3 ciclos

## 9. PROCEDIMIENTO

### 9.1. Preparación de calibradores y controles

El sistema de ensayo está calibrado en unidades arbitrarias relativas. Los calibradores están listos para utilizarse y tienen las siguientes concentraciones:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
AU/mL	0	10	20	40	160

Los controles están listos para su uso.

### 9.2. Preparación del conjugado

El conjugado está listo para su uso. Mezclar suavemente durante 5 minutos con un mezclador de rodillos.

### 9.3. Preparación de la solución de lavado

Diluir el contenido del vial «10X Conc. Wash Solution» con agua destilada hasta un volumen final de 500 mL antes de usarlo. Para volúmenes más pequeños, respete la relación de dilución de 1:10.

Es posible que observe la presencia de cristales dentro de la solución de lavado concentrada; en este caso, mezcle a temperatura ambiente hasta la completa disolución de los cristales. Para una mayor precisión, diluya todo el frasco de solución de lavado concentrada a 500 mL, teniendo cuidado también de transferir los cristales enjuagando completamente el frasco y luego mezclando hasta que los cristales se disuelvan completamente.

### 9.4. Preparación de las muestras

La determinación de IgG β2 glicoproteína 1 se puede realizar en muestras de suero (tubos de muestras estándar o tubos que contienen gel para la separación de suero) o plasma (heparina de litio, heparina sódica o EDTA de potasio).

**Todas las muestras de suero y plasma deben diluirse previamente con diluyente de muestra 1:100;** por ejemplo, 10 µL de muestra pueden diluirse con 990 µL de diluyente de muestra.

No es necesario tomar muestras en ayunas y no se requiere ninguna preparación especial de las muestras.

Obtenga la sangre por venopunción en Vacutainers y separe el suero (tras la formación del coágulo) o el plasma de las células por centrifugación.

Ni la bilirrubina ni la hemólisis tienen un efecto significativo en el procedimiento.

Almacenar la muestra a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  si la determinación no se lleva a cabo el mismo día que se recoge la muestra. Antes de utilizar, mezclar suavemente durante 5 minutos con un mezclador de rodillos.

### 9.5. Procedimiento

- **Deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (22-28 °C) durante al menos 30 minutos.** Al finalizar el ensayo, almacene inmediatamente los reactivos a 2-8 °C: evite la exposición prolongada a la temperatura ambiente.
- Las tiras de micropocillos recubiertas no utilizadas deben dejarse de forma segura en el envoltorio de papel de aluminio que contiene desecante y almacenarse a 2-8 °C.
- Para evitar que se produzca una posible contaminación microbiana o química, los reactivos no utilizados nunca se deberán transferir a los viales originales.
- Como es necesario realizar la determinación por duplicado para mejorar la precisión de los resultados de la prueba, prepare dos pocillos para cada punto de la curva de calibración (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), dos por cada control, dos para cada muestra y uno para el blanco.

Reactivo	Calibrador	Muestra/ Controles	Blanco
Calibrador C <sub>0</sub> -C <sub>4</sub>	100 µL		
Controles		100 µL	
Muestra diluida		100 µL	

Incube durante 60 minutos a temperatura ambiente (22-28 °C).

Retire el contenido de cada pocillo, lave los pocillos 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida.

**Nota importante:** en cada paso de lavado, agite ligeramente la placa durante 5 segundos y elimine el exceso de solución golpeando la placa invertida sobre un paño de papel absorbente.

**Lavadora automática:** si utiliza un equipo automático, lave los pocillos al menos 5 veces.

Conjugado	100 µL	100 µL	
-----------	--------	--------	--

Incube durante 30 minutos a temperatura ambiente (22-28 °C).

Retire el contenido de cada pocillo, lave los pocillos 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida.

**Lavado:** siga las mismas indicaciones del punto anterior.

Sustrato de TMB	100 µL	100 µL	100 µL
--------------------	--------	--------	--------

Incube durante 15 minutos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (22-28 °C).

Solución de detención	100 µL	100 µL	100 µL
--------------------------	--------	--------	--------

Agite suavemente la microplaca.

Compare la absorbancia (E) a 450 nm con la obtenida con una longitud de onda de referencia de 620-630 nm o con el blanco en un plazo de 5 minutos.

### 10. CONTROL DE CALIDAD

Las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) requieren el uso de muestras de control de calidad en cada serie de ensayos para comprobar el rendimiento del ensayo. Los controles deberán tratarse como muestras desconocidas y los resultados deberán analizarse con métodos estadísticos adecuados.

Los controles incluidos en el kit deberán ser probados como desconocidos y están destinados a ayudar a evaluar la validez de los resultados obtenidos con cada placa de ensayo.

La concentración media de cada nivel de control se documenta en el informe de control de calidad que se incluye en cada kit. Los niveles de concentración media se determinan respecto de varios análisis, los cuales se realizan por duplicado en varios puntos diferentes de cada placa.

DiaMetra recomienda que los usuarios mantengan registros gráficos de los valores de control que se generan con cada ensayo, incluida la media de ejecución, la DE (desviación estándar) y el % CV. Esta información facilitará los ensayos de tendencia de los controles relacionados con el rendimiento de lotes de control actuales e históricos relativos a los datos de control de calidad proporcionados. La tendencia facilitará la identificación de los ensayos que generan valores de control significativamente distintos de su rango medio.

Al interpretar los datos de control, los usuarios deberán tener en cuenta que este producto fue diseñado y desarrollado como un producto manual. El rango establecido en el certificado de control de calidad deberá ser adecuado para los ensayos que se realizan manualmente y en estricto cumplimiento del procedimiento de ensayo anteriormente descrito. Los profesionales del control de calidad reconocen que, como resultado de las diferencias en las condiciones y en las prácticas, siempre habrá variaciones entre laboratorios en los valores medios y en la precisión de las mediciones de control<sup>7</sup>.

### 11. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Hay disponibles diversos paquetes de software de reducción de datos que se pueden utilizar para generar el promedio de la curva de calibración y para calcular el promedio de las concentraciones de muestras y controles desconocidos. Es necesario un ajuste de curva logístico de 4 parámetros (4PL), **incluido el calibrador 0**. También se puede usar un ajuste de splines suavizado que incluya el calibrador 0. No se recomiendan otros algoritmos de ajuste de curva.

También se puede preparar una curva de calibración en papel semilogarítmico mediante el trazado de la absorbancia media en el eje Y frente a la concentración de analitos en el eje X. El calibrador 0 debe incluirse en la curva de calibración. Lea el valor de absorbancia medio de cada muestra desconocida que se encuentra fuera de la curva.

Para que los resultados del ensayo se consideren válidos, los calibradores y el control del kit deben ajustarse a las especificaciones detalladas en el certificado de análisis específico del lote.

Si un control está fuera de su rango especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y se deben volver a realizar pruebas de las muestras.

### Conversión de unidades

Para convertir los resultados a unidades estándar:

$$\text{IU/mL} = \text{AU/mL} \times 0,85$$

### 12. RANGO DE MEDICIÓN

El rango de medición del ensayo (AMR) es de 3,30 – 160.0 AU/mL.

Cualquier valor que sea inferior a 3,30 AU/mL debe informarse como “<3,30 AU/mL”. Cualquier valor que sea superior a 160.0 AU/mL debe informarse como “>160.0 AU/mL”.

### 13. METROLOGÍA Y TRAZABILIDAD

Los calibradores de este kit se pueden trazar al Estándar internacional para inmunoglobulina G antiβ2 glicoproteína I (IS 21/266).

### 14. VALORES ESPERADOS

Los rangos siguientes se determinaron usando el Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG y se facilitan solo con fines informativos. El intervalo de referencia del 90% para adultos aparentemente sanos se calculó mediante un método no paramétrico siguiendo la orientación de CLSI C28-A3 “Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory”.

	n	Mediana (AU/mL)	Intervalo de referencia (AU/mL)
<b>Adultos</b>	50	<3,30	<3,30

Los rangos anteriores deberán ser considerados como directrices solamente; se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango previsto en función de su propia población de pacientes.

### 15. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

IgG B2 glicoproteína 1 (AU/mL)	Interpretación
<16	La muestra debe considerarse negativa.
16-20	La muestra debe ser calificada como equívoca y la repetición de la prueba/muestreo debe realizarse de acuerdo con las prácticas internas.
>20	La muestra debe considerarse positiva.

La determinación de un rango de valores esperados para una población «normal» de un método dado depende de muchos factores, como la especificidad y la sensibilidad del método utilizado y el tipo de población en investigación. Por lo tanto, cada laboratorio debe considerar el rango dado por el fabricante como una indicación general y establecer su propio rango de valores esperados en función de la población autóctona.

Los resultados positivos deben verificarse en relación con el estado clínico general del paciente, y la decisión de la terapia se toma de forma individual. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales y patológicos de valores de anticuerpos antibeta 2 glicoproteína 1.

### 16. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se muestran los datos de rendimiento representativos. Los resultados obtenidos en diferentes laboratorios pueden diferir.

#### 16.1. Capacidad de detección

El límite de blanco (LoB), el límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LoQ) se determinaron con orientación del documento CLSI EP17-A, “Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation”, usando 6 blancos y 6 muestras de bajo nivel.

Sensibilidad	Concentración
Límite de blanco (LoB)	1,17 AU/mL
Límite de detección (LoD)	2,26 AU/mL
Límite de cuantificación (LoQ)	3,30 AU/mL

#### 16.2. Veracidad

Se ha demostrado la veracidad mediante una prueba de recuperación del ensayo Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG con la Norma Internacional para la inmunoglobulina G antiβ2 glicoproteína I (IS 21/266).

#### 16.3. Sensibilidad y especificidad del diagnóstico

La sensibilidad y la especificidad se determinaron con orientación del documento CLSI EP-24 “Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves” usando 50 muestras

negativas y 73 positivas realizadas en de dos lotes de reactivos.

		DKO110		Total
		Positivo	Negativo	
Estado real	Positivo	67	6	73
	Negativo	0	50	50
Total		67	56	123

Sensibilidad del diagnóstico: 92%

Especificidad del diagnóstico: 100%

#### 16.4. Precisión

La precisión de Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG se determinó mediante la realización de un estudio de precisión complejo.

**Repetibilidad:** Se analizaron un total de 6 muestras en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores.

A continuación, se muestran los datos de un lote representativo:

Muestra	n	Concentración media (AU/mL)	Intraprueba (repetibilidad)	
			DE	CV %
1	75	8,19	0,51	6,3%
2	75	19,96	0,78	3,9%
3	75	40,17	2,14	5,3%
4	75	71,51	3,34	4,7%
5	75	103,36	2,95	2,9%
6	75	146,46	9,85	6,7%

**Reproducibilidad** Se analizó un total de 6 muestras en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores. A continuación, se muestran los resultados de los datos combinados de dos lotes:

Muestra	n	Concentración media (AU/mL)	Dentro del laboratorio (reproducibilidad)	
			DE	CV %
1	150	8,38	0,74	8,8%
2	150	19,97	1,01	5,1%
3	150	39,06	3,75	9,6%
4	150	69,69	4,86	7,0%
5	150	99,72	7,32	7,3%
6	150	143,46	10,79	7,5%

#### 16.5. Linealidad

La linealidad se evaluó en base a CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Para la concentración de IgG antibeta 2 glicoproteína 1 mediante el ensayo Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG, el procedimiento de medición muestra linealidad para el intervalo de 3,30 a 160,0 AU/mL dentro de la desviación de linealidad permitida (ADL) de  $\pm 15\%$ .

#### 16.6. Especificidad analítica

Las siguientes sustancias no interfieren con un sesgo de  $> \pm 15\%$  en el ensayo Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG cuando las concentraciones están por debajo del umbral indicado presentado en la siguiente tabla.

Reactivos que pueden interferir	Límite máximo de concentración
Bilirrubina, conjugada	15 mg/dL
Bilirrubina, no conjugada	15 mg/dL
Hemoglobina	200 mg/dL
Proteína total	10 g/dL
Triglicéridos	500 mg/dL

#### 16.7. Estudio en suero-plasma

El estudio de comparación de la matriz de Anti beta 2 Glycoprotein 1 IgG se realizó para evaluar la diferencia entre los tipos de tubos (tubos separadores de suero [SST], plasma de heparina de litio, plasma de heparina sódica y plasma K2 EDTA) frente a las muestras de control (tapón rojo para suero, sin aditivos) siguiendo las directrices de CLSI EP35-Ed1. Se evaluó un total de 20 muestras (16 nativas, 4 enriquecidas). Se realizó el análisis de regresión de Passing y Bablok en los datos comparativos:

Tipo de muestra	Pendiente [IC del 95 %]	Intersección (AU/mL) [IC del 95 %]	Coefficiente de correlación (r)
SST	0,96 [0,93 – 1,00]	1,04 [-0,67 – 2,75]	1,00
Heparina de litio	0,94 [0,88 – 1,00]	1,43 [-1,31 – 4,17]	0,99
Heparina sódica	0,95 [0,91 – 0,99]	0,85 [-1,00 – 2,70]	1,00
EDTA	0,95 [0,91 – 0,98]	1,09 [-0,41 – 0,98]	1,00

#### 17. LÍMITES DE USO

- Como en cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados se deberán interpretar junto con los hallazgos clínicos del paciente y otra información de la que el médico disponga.
- Las características de rendimiento de este análisis no se han establecido para una población pediátrica.
- Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden presentar reacciones con las

inmunoglobulinas reactivas, que interfieren con los inmunoensayos *in vitro*<sup>8</sup>. Los pacientes que se exponen habitualmente a animales o a productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y puede que se observen valores anómalos.

## 18. GESTIÓN DE RESIDUOS

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa local.

Todos los materiales que hayan entrado en contacto con las muestras y los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa nacional, estatal y local.

## 19. BIBLIOGRAFÍA

1. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006 Feb;4(2):295-306.
2. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. *Curr Rheumatol Rep.* 2011 Feb;13(1):70-6.
3. Otomo K, Atsumi T, Amengual O, Fujieda Y, Kato M, Oku K, Horita T, Yasuda S, Koike T. Efficacy of the antiphospholipid score for the diagnosis of antiphospholipid syndrome and its predictive value for thrombotic events. *Arthritis Rheum.* 2012 Feb;64(2):504-12.
4. Roggenbuck D, Somma V, Schierack P, Borghi MO, Meroni PL. Autoantibody profiling in APS. *Lupus.* 2014 Oct;23(12):1262-4.
5. Linnemann B. Antiphospholipid syndrome – an update. *Vasa.* 2018 Oct;47(6):451-464.
6. Banzato A, Pengo V. Clinical relevance of  $\beta$  - glycoprotein-I plasma levels in antiphospholipid syndrome (APS). *Curr Rheumatol Rep.* 2014 Jun;16(6):424.
7. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
8. Boscatto, LM. And Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

## 20. IDENTIFICADOR DE REVISIÓN














Las adiciones o cambios en las instrucciones de uso se han resaltado en gris.

## 21. RECLAMACIONES SOBRE PRODUCTOS Y ASISTENCIA TÉCNICA

Para un paciente/usuario/tercero en la Unión Europea y en países con un régimen regulatorio similar: Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*; si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se ha producido un incidente grave, informe de este al fabricante o a su representante autorizado y al organismo regulador nacional. Puede contactar con el fabricante a través del servicio de atención al cliente o del equipo de asistencia técnica. Los datos de contacto se encuentran a continuación y en el sitio web de la empresa: [www.diametra.com](http://www.diametra.com).

Ed. 01/2024

DCM110-6

	DE ES FR EN IT PT	<i>In vitro</i> Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico <i>In vitro</i> Dispositif medical de diagnostic <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Dispositivos medicos de diagnostico <i>in vitro</i>		DE ES FR EN IT PT	Hergestellt von Elaborado por Fabriqué par Manufacturer Produttore Produzido por
	DE ES FR EN IT PT	Achtung, Begleitedokumente Precaución, consulte los documentos adjuntos Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement Caution, consult accompanying documents Attenzione, consultare la documentazione allegata Atenção,consultar os documentos de acompanhamento	 yyyy-mm	DE ES FR EN IT PT	Herstellungs datum Fecha de fabricacion Date de fabrication Date of manufacture Data di produzione Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE ES FR EN IT PT	Verwendbar bis Establa hasta (usar antes de último día del mes) Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) Use by (last day of the month) Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE ES FR EN IT PT	Biogefährdung Riesco biológico Risque biologique Biological risk Rischio biologico Risco biológico
	DE ES FR EN IT PT	Gebrauchsanweisung beachten Consultar las instrucciones Consulter le mode d'emploi Consult instructions for use Consultare le istruzioni per l'uso Consultar instruções para uso		DE ES FR EN IT PT	Chargenbezeichnung Codigo de lote Numero de lot Batch code Codice del lotto Codigo do lote
 $\Sigma = xx$	DE ES FR EN IT PT	Ausreichend für "n" Tests Contenido suficiente para "n" tests Contenu suffisant pour "n" tests Contains sufficient for "n" tests Contenuto sufficiente per "n" saggi Contém o suficiente para "n" testes		DE ES FR EN IT PT	Inhalt Contenido del estuche Contenu du coffret Contents of kit Contenuto del kit Conteúdo do kit
 Max Min	DE ES FR EN IT PT	Temperaturbereich Limitación de temperatura Limites de température de conservation Temperature limitation Limiti di temperatura Temperaturas limites de conservação		DE ES FR EN IT PT	Bestellnummer Número de catálogo Références du catalogue Catalogue number Numero di Catalogo Número do catálogo
	DE ES FR EN IT PT	Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen Mantener alejado de la luz solar Tenir à l'écart de la lumière du soleil Keep away from sunlight Tenere lontano dalla luce solare Mantenha longe da luz solar			