

(€) El kit de cuantificación de saliva Greiner Bio-One (ES)

Instrucciones de uso

1. Fabricante

Greiner Bio-One GmbH, Bad Haller Straße 32, 4550 Kremsmünster, Austria

2. Finalidad prevista

El kit de cuantificación de saliva Greiner Bio-One es un diagnóstico *in vitro* que sirve exclusivamente para determinar la proporción de saliva en la prueba de saliva que se toma con el sistema colector de saliva Greiner Bio-One. Es necesario conocer el contenido de saliva para poder determinar la concentración original de la prueba a analizar.

La obtención de saliva con el sistema colector de saliva Greiner Bio-One precisa una dilución individual de la prueba de saliva obtenida enjuagando la cavidad bucal con la solución colectora de saliva con lo que cambia la concentración original de la prueba a analizar.

El kit de cuantificación de saliva Greiner Bio-One no permite hacer ninguna determinación directa de pruebas de saliva a analizar. El kit de cuantificación de saliva Greiner Bio-One sólo permite hacer análisis a partir de saliva si se combina con diagnósticos específicos *in vitro* que dan informaciones sobre la composición de la saliva.

3. Descripción del producto y composición

Greiner Bio-One - Calibrador de saliva 1	1 frasco; 4ml; 11 U/mL*; listo para el uso; contiene solución colectora de saliva diluida, 1,9 mg/mL de sulfato amónico y 1 mg/mL de azida sódica
Greiner Bio-One - Calibrador de saliva 2	1 frasco; 4ml; 27 U/mL*; listo para el uso; contiene solución colectora de saliva diluida, 1,9 mg/mL de sulfato amónico y 1 mg/mL de azida sódica
Greiner Bio-One - Calibrador de saliva 3	1 frasco; 4ml; 46 U/mL*; listo para el uso; contiene solución colectora de saliva diluida, 1,9 mg/mL de sulfato amónico y 1 mg/mL de azida sódica
Greiner Bio-One - Calibrador de saliva 4	1 frasco; 4ml; 66 U/mL*; listo para el uso; contiene solución colectora de saliva diluida, 1,9 mg/mL de sulfato amónico y 1 mg/mL de azida sódica
Greiner Bio-One - Calibrador de saliva 5	1 frasco; 4ml; 85 U/mL*; listo para el uso; contiene solución colectora de saliva diluida, 1,9 mg/mL de sulfato amónico y 1 mg/mL de azida sódica
Greiner Bio-One - Control de saliva 1	1 frasco; 4ml; 30 U/mL*; listo para el uso; contiene saliva humana, solución colectora de saliva, 1,9 mg/mL de sulfato amónico y 1 mg/mL de azida sódica
Greiner Bio-One - Control de saliva 2	1 frasco; 4ml; 70 U/mL*; listo para el uso; contiene saliva humana, solución colectora de saliva, 1,9 mg/mL de sulfato amónico y 1 mg/mL de azida sódica

* 1 U/mL equivale a 1 por ciento de volumen de saliva.

4. Advertencias y medidas de precaución

Todos los componentes del kit contienen 1 mg/mL de azida sódica tóxica. Evítese el contacto con la piel y los ojos, no ingerir y utilícense guantes durante el trabajo. Tras el contacto con la piel o los ojos hay lavarse con agua durante al menos 15 minutos. Si se ingiere o entra en contacto con los ojos consúltese a un médico.

La azida sódica, en combinación con metales pesados, especialmente con plomo y cobre (tubos de desagüe), puede formar azidas metálicas explosivas. Para su eliminación hay que tener en cuenta que no se produzca una acumulación de azidas y hay que lavar adicionalmente con abundante agua.

Los controles de saliva 1 y 2 contienen saliva humana que se ha analizado con comprobación de ácido nucleínico para detectar virus de hepatitis-B (HBV), de hepatitis-C (HCV) y virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) dando como resultado "no demostrable".

Debido a que no hay métodos seguros de comprobación para descartar patógenos es necesario considerar a los controles de saliva como material potencialmente infeccioso que sólo debería utilizar el personal que tenga la formación correspondiente.

5. Almacenamiento y duración de conservación

Almacenamiento: Protegido contra la luz a entre 4°C y 25°C; protéjase el kit contra el hielo, no congelar.

Conservabilidad: Véase la etiqueta del envase. Los calibradores /controles pueden conservarse durante 3 meses tras su apertura y deben guardarse cerrados a 4°C.

6. Principio del método

Las pruebas obtenidas con el sistema colector de saliva Greiner Bio-One contienen el colorante alimenticio tartrazina como estándar interno.

Con la ayuda de los calibradores de saliva se determina fotométricamente el estándar interno en las pruebas de saliva y luego se recalcula la proporción de saliva.

7. Material de análisis

Con el kit de cuantificación de saliva Greiner Bio-One sólo pueden analizarse las pruebas de saliva obtenidas con el sistema colector de saliva Greiner Bio-One.

8. Aparatos de laboratorio y medios auxiliares necesarios

- Analizador clínico, fotómetro de cubetas o fotómetro de placas con longitudes de onda de medición de 450 nm y 520 nm (cubetas, placas microtiter o similares, dependiendo de las exigencias del fotómetro).
- Eventualmente micropipeta variable (100 – 1000 µL) y puntas desechables.

9. Preparación de los reactivos y del material de análisis

- Las pruebas de saliva tienen que estar a temperatura ambiente antes de hacer el análisis.
- Antes de determinar la proporción de saliva es necesario centrifugar **10 min con 2200xg** los tubitos de traslado de saliva que contienen la prueba de saliva. Posteriormente no deben agitarse las pruebas centrifugadas; en caso contrario hay que repetir la centrifugación.

10. Realización de la cuantificación de saliva

10.1. Calibrado

Mídanse los calibradores 1 a 5 con 450 nm y 520 nm y determínense la diferencia de absorbancia a través de substracción.

$$\Delta \text{ Absorbancia}_{\text{Calibrador}} = \text{ Absorbancia } 450 \text{ nm}_{\text{Calibrador}} - \text{ Absorbancia } 520 \text{ nm}_{\text{Calibrador}}$$

En los analizadores clínicos sirve el agua del sistema como valor en blanco para las cubetas. En fotómetros de cubetas o placas se recomienda utilizar agua desionizada como valor en blanco para las cubetas o placas. Aquí hay que tener en cuenta que debe utilizarse suficiente volumen para la medición dependiendo de las especificaciones del fabricante y del tipo de aparato. En los fotómetros de cubetas deberían utilizarse cubetas de 1 cm. Si se utiliza una placa microtiter de 96-Well se recomienda utilizar 150 - 200µL para la medición.

10.2. Medición de las pruebas

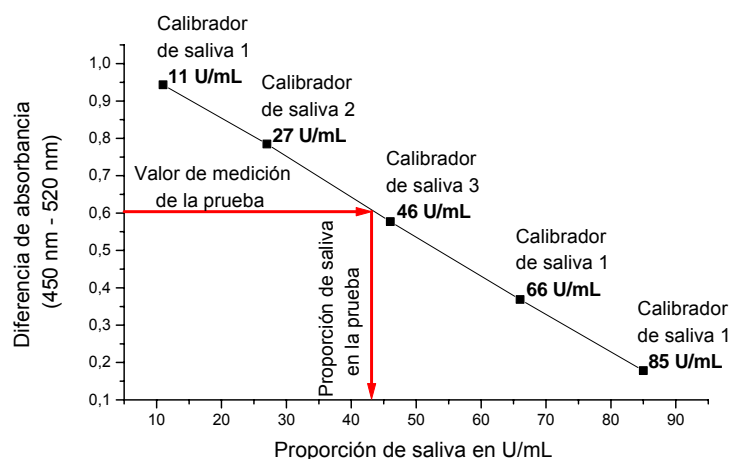
Seguidamente se hace la medición de las pruebas de saliva centrifugadas que se han obtenido con el sistema colector de saliva Greiner Bio-One, de la misma forma que con los calibradores.

Indicación: Bajo www.gbo.com/preanalytics pueden invocarse los protocolos actuales para la determinación automática de la proporción de saliva en diferentes analizadores clínicos.

11. Cálculo del contenido de saliva

Aplicando la diferencia de absorbancia medida contra las unidades de los calibradores se genera una recta de calibrado (Fig.1). Con la ayuda de esta recta de calibrado se calcula con la fórmula de regresión lineal la proporción de saliva (U/mL) en la prueba. Para ello es de aplicación: 1 U/mL equivale a 1 por ciento de volumen de saliva.

Fig. 1: Diagrama ejemplar de calibrado y evaluación de una prueba de saliva. Está prohibido utilizar esta figura para determinar pruebas de pacientes.



12. Control interno de calidad

Para comprobar que la realización de la determinación sea correcta y sin fallos es necesario determinar los controles de saliva suministrados 1 y 2 antes de la medición de una o varias pruebas de saliva. Para ello es necesario que las concentraciones constatadas estén dentro del intervalo del valor nominal indicado (Tab. 1). Si los valores de las pruebas no están dentro del intervalo del valor nominal, entonces la determinación carece de validez.

Tab.1: intervalos del valor nominal de los controles de saliva suministrados.

Control	Intervalo del valor nominal (U/mL)
Control de saliva 1	28 - 32
Control de saliva 2	68 - 72

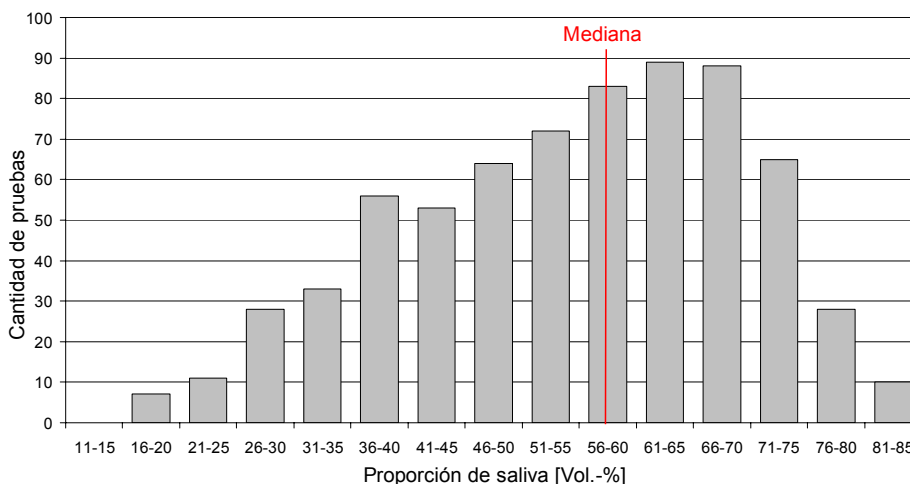
13. Características de prestaciones y límites del método

13.1. Características de prestaciones analíticas

13.1.1. Gama de cuantificación

La gama de cuantificación está entre 11 y 85 U/mL. Los valores de medición que estén fuera de la gama de cuantificación tienen que considerarse como no válidos.

Fig. 2: Distribución de la proporción de saliva en jóvenes y adultos (edad: 15 – 92 años; n=687; ♀ : ♂ = 40% : 60%).



13.1.2. Exactitud

La divergencia del correspondiente valor objetivo se ha constatado con la determinación individual de la proporción de saliva con diferentes cantidades de saliva en un analizador clínico (Olympus AU 400) (Tab. 2).

13.1.3. Exactitud del medio

La divergencia del correspondiente valor objetivo se ha constatado con la determinación múltiple de la proporción de saliva con diferentes cantidades de saliva en un analizador clínico (Olympus AU 400) (Tab. 3).

Tab.2: Exactitud.

Valor objetivo (U/mL)	Divergencia del valor objetivo (%)
35	± 9
45	± 4
55	± 4
65	± 2
75	± 1

Tab.3: Exactitud del medio.

Valor objetivo (U/mL)	Divergencia del valor objetivo (%)
35	± 9
45	± 4
55	± 3
65	± 2
75	± 1

13.2. Especificidad analítica, interferencias de matriz y límites del método

Las impurezas de alimentos o sangre que haya en la prueba de saliva obtenida pueden falsificar los resultados del análisis. Lo mismo es también de aplicación a los colorantes alimenticios en dulces, bebidas o medicamentos. El error que pueda surgir por ello depende del tipo y de la cantidad de las impurezas. Si se hace una toma correcta de la pruebas de saliva con el sistema colector de saliva Greiner Bio-One, normalmente no surge una interferencia de matriz de esa forma.

Las pruebas que tengan muchas impurezas después de la centrifugación o decoloraciones tienen que rechazarse para evitar resultados falsos del análisis.

14. Determinación posterior de resultados de análisis y compatibilidad de pruebas

Las pruebas de saliva obtenidas con el sistema colector de saliva Greiner Bio-One se encuentran en una matriz que no puede compararse con las pruebas de suero /plasma ni orina. En diversas investigaciones se demuestra que muchos de los métodos de determinación establecidos para comprobar los resultados de análisis de suero /plasma u orina tienen que adaptarse para obtener resultados válidos de los análisis.

El sistema no puede determinar los siguientes resultados de análisis: nitrógeno uréico en sangre (BUN), urea, sodio.

Las experiencias hechas hasta ahora muestran que el potasio y el cloruro no pueden determinarse con validez con electrodos sensitivos a iones (ISE) y pueden surgir inhibiciones al determinar ácidos nucleínicos virales.

15. Literatura

- Haeckel R. Speicheldiagnostik. Weinheim. GIT Verlag, 1988.
- Haeckel R. Walker RF. Colic D. Reference ranges for mixed saliva collected from the literature. J Chem Clin Biochem. 1989 Apr;27(4):249-52.
- Thomas L. Labor und Diagnose. Frankfurt/Main. TH-Books, 6. Aufl. 2005.
- Raggam RB et al. Evaluation of a novel standardized system for collection and quantification of oral fluid. Clin Chem Lab Med. 2008;46(2):287–291

16. Fecha de la edición

Versión 01 del 25.01.05



Sede central: Greiner Bio-One GmbH, 4550 Kremsmünster, Austria
Greiner Vacuette North America Inc., 4238 Capital Drive, Monroe, NC 28112, U.S.A.
www.greiner-bio-one.com